Iulian Mincu
Nicolae Hâncu

LIPIDOLOGIE
CLINICĂ

DISLIPIDEMIILE

Scanned with OKEN Scanner

Prof. Dr. Doc. **Iulian Mincu**
Directorul Clinicii de nutriţie
şi boli metabolice
I.M.F. — Bucureşti

Nicolae Hâncu
Doctor în medicină
Clinica II Medicală
I.M.F. Cluj-Napoca

LIPIDOLOGIE CLINICĂ

DISLIPIDEMIILE

(Hiperlipoproteinemiile)

Scanned with OKEN Scanner

„Faceţi ca prin activitatea voastră să se afirme tot mai puternic minunatul geniu creator al poporului nostru! Consacraţi-vă toate forţele prosperităţii patriei, creşterii prestigiului ştiinţei româneşti în lume".

NICOLAE CEAUŞESCU

Scanned with OKEN Scanner

PREFAȚĂ

„L'homme porte la responsabilité d'un monde qui n'est pas l'oeuvre de quelqu'un du dehors, mais de lui-même, et où s'inscrivent également ses échecs et ses victoires".

SIMONE DE BEAUVOIR

La Congresul de la New-Orleans (S.U.A. 1976) s-a subliniat rolul pe care-l au modificările lipidelor sanguine în apariția aterosclerozei (cu manifestările sale clinice cele mai frecvente : infarctul miocardic, ateroscleroza cerebrală, arteriopatia periferică etc.) și interrelațiile dintre acestea și factorii de mediu, dintre care cel mai important este și rămîne modul de alimentație.

Hiperlipoproteinemiile (sau Dislipemiile cum le numim noi cu un termen deja încetățenit în limbajul de specialitate) se întîlnesc la 20% din populația sănătoasă în S.U.A., la 17% în Franța, la 14,28% în țara noastră. Frecvența lor mare, la o vîrstă relativ tînără, constituie un motiv deosebit de îngrijorare pentru toată lumea medicală. „Datorită relației cu ateroscleroza, studiul și terapia hiperlipidemiilor se situează în centrul medicinei contemporane", scria pe bună dreptate Schettler, în 1975. Nu se poate concepe un program de combatere a bolilor cardiovasculare degenerative fără a se depista, diagnostica și dispensariza aceste perturbări ale lipidelor sanguine, cunoscute sub numele de Hiperlipoproteinemii sau Dislipidemii. Ateroscleroza, indiferent de manifestarea sa clinică, o dată constituită, rămîne o boală permanentă la care terapeutica nu poate face nimic altceva, decît să combată simptomele, să amelioreze evoluția și să prevină complicațiile acute mortale. Cît de puțin înseamnă acest lucru se oglindește în statisticile mondiale ale mortalității prin boli cardio-vasculare : 54% în S.U.A., peste 50% în toate țările occidentale, 46,34% în România. Mortalitatea prin infarct miocardic sub vîrsta de 40 de ani, s-a triplat în ultimii 15 ani, în țările dezvoltate. Aceste cifre nu necesită nici un comentariu.

Prevenirea oricăror boli presupune cunoașterea circumstanțelor de apariție, a factorilor implicați în etiopatogenia bolii și a modului lor de acțiune. În prezent se știe că determinarea aterosclerozei este multifactorială, diferiții factori etiologici implicați (hiperlipoproteinemia, hipertensiunea arterială, toleranța scăzută la glucide, fumatul etc.) avînd un efect aditiv.

Scanned with OKEN Scanner

Rolul hiperlipidemiilor în geneza procesului aterogen este bine-cunoscut. Poate mai puțin cunoscut în practica terapeutică este faptul că aceste hiperlipidemii pot fi tratate. Scăderea numai cu 10% a colesterolului seric la bolnavii hipercolesterolemici a avut drept consecință reducerea incidenței cardiopatiei ischemice cu 2,4%, iar a mortalității prin cardiopatie cu 6,1% (așa cum s-a arătat și la Congresul susmenționat). Acest lucru s-a obținut numai printr-un regim alimentar corect. Și, așa cum a arătat și prof. Kaare R. Norum, directorul Institutului de Nutriție din Oslo, aceasta înseamnă în primul rînd reducerea consumului de grăsimi, astfel încît să nu depășească 1/3 din cantitatea calorică totală (circa 30%); reducerea consumului de dulciuri (zaharuri); reducerea cantității calorice totale. Alimentația bogată în carne, lapte, ouă, unt etc. este poate una din cauzele majore ale dislipidemiilor. Dr. Michael Crawford de la Institutul de Nutriție comparată din Londra subliniază, de exemplu, rolul nociv al cărnii de bovine în alimentația contemporană. Bovinele sînt îngrășate în țările bogate cu cereale, pentru a crește rapid în greutate. Creșterea în greutate se face în contul grăsimilor. Or, aceste grăsimi concentrate sînt extrem de nocive. (La bovinele crescute intensiv există 50 de părți grăsimi saturate față de o parte nesaturată în timp ce, spre exemplu, la bovinele sălbatice raportul este de numai 2/1).

Experiența noastră, efectuată în urmă cu peste 6 ani, de depistare în masa generală a populației „sănătoase" de vîrstă 25—65 de ani a diferitelor forme de dislipidemii și dispensarizarea lor la Centrul de nutriție și boli metabolice din București, ne-a confirmat justețea acestor măsuri. S-a obținut, numai prin regim alimentar corect (tipizat de noi după cele 5 tipuri de dislipidemii descrise de Fredrickson), normalizarea filmului lipidic la peste 50% dintre pacienții dispensarizați. De asemenea, demn de reținut este că numărul de infarcte miocardice, apărute în cadrul acestei „populații dispensarizate", a fost în această perioadă mai mic cu de peste 4 ori decît în populația generală din București, iar numărul de cardiopatii ischemice noi a scăzut cu peste 35%. Și dacă ne gîndim că depistarea unui bolnav cu hiperlipoproteinemie a costat în acea perioadă circa 82 lei, iar tratamentul unui infarct miocardic costa statul în medie peste 15 000 lei (fără a vorbi de aspectele sociale, retribuții etc.), se înțelege rolul, nu numai social, pe care îl are prevenirea acestor boli prin depistarea, diagnosticarea și dispensarizarea precoce a bolnavilor cu hiperlipoproteinemie, dar și cel economic.

Subestimarea rolului nutriției în combaterea bolilor grave ale „civilizației" este din păcate poate una din cauzele majore ale răspîndirii lor. Astfel, dr. Jean Mayer, de la Universitatea din Harward S.U.A., spunea cu regret că „medicul american mijlociu cunoaște despre nutriție aproape tot atît de mult cît cunoaște secretara sa; dacă aceasta suferă însă cumva de obezitate poate să cunoască chiar ceva mai mult".

Lucrarea de față, care constituie primul volum al unei lucrări mai ample intitulată „Lipidologie clinică" (al 2-lea volum va descrie, pato-

Scanned with OKEN Scanner

logia tisulară a lipidelor), tratează din punct de vedere clinic, biochimic, fiziopatologic, diagnostic, laborator, terapeutic, profilactic diversele tipuri de dislipidemii (hiperlipoproteinemii), pe baza experienței noastre personale, la Centrul de nutriție și boli metabolice, București, cît și pe baza unei literaturi de specialitate bogate, la zi.

Ținem să mulțumim cu această ocazie colaboratorilor dr. Constantin Ionescu, dr. Dorina Boboia, dr. Justin Stănescu, dr. Dan Cheța ș.a. care, prin munca lor, în cadrul echipei de medici axați pe combaterea dislipidemiilor, au adus un ajutor neprecupețit în stabilirea unora dintre concluziile ce reies din această lucrare. Totodată exprimăm sentimentele noastre de mulțumire pentru ajutorul dat la întocmirea iconografiei de către ing. T. Seimeanu și Rodica Seimeanu.

★

„Trebuie să se acorde atenția principală prevenirii bolilor, apărării sănătății..." spunea tovarășul Nicolae Ceaușescu, Secretarul General al Partidului, cu ocazia constituirii Consiliului Sanitar Superior. Lucrarea de față se înscrie — considerăm noi — tocmai pe această linie majoră a preocupărilor medicale contemporane.

Suferința și sfîrșitul tragic al bolnavilor cu ateroscleroză au demonstrat suficient că această boală reprezintă un imens pericol pentru prosperitatea biologică a speciei umane. Numai prin prevenirea ei, generațiile prezente și viitoare vor putea beneficia de binefacerile civilizației.

AUTORII

Scanned with OKEN Scanner

PRESCURTĂRI

AMP = acid adenozin monofosforic
cAMP = acid adenozin monofosforic ciclic
ATP = acid adenozin trifosforic
AcCoACbx = acetil-CoA — carboxilază
ADH = alcool dehidrogenază
ACP = acyl carrier protein (proteina transportoare de acil)
ACTH = hormon adrenocorticotrop
APO = apoproteine, apolipoproteine
AA = aminoacizi
- — ala : alanină
- — arg : arginină
- — cis : cisteină
- — gln : glutamină
- — glu : acid glutamic
- — il : acid izoleucinic
- — leu : leucină
- — lis : lizină
- — ser : serină
- — thr : treonină
- — tir : tirosină
- — val : valină

AG = acid gras
AGL = acid gras liber
Beta-VLDL = lipoproteine flotante (= IDL = ILDL)
CDP = acid citidin fosforic
CL = Enzime de clivaj a citratului
CTP = acid citidin trifosforic
CoA = coenzima A
COL = colesterol
COL-LDL = colesterolul conținut în LDL
COL-VLDL = colesterol conținut în VLDL
COL-HDL = colesterol conținut în HDL
CHILO = chilomicroni
CPIB = clorofenoxi-izobutilat (clofibrat)
CS = citrat sintetază
DZ = diabet zaharat
FAD = flavinadenindinucleotid
$FADH_2$ = flavinadenindinucleotid redus
FL = fosfolipide
FMN ($FMNH_2$) = Flavin mononucleotid (redus)
GDP = acid guanozin difosforic
GTP = acid guanozin trifosforic
GNG = gluconeogeneză
HL = hiperlipidemie
HLP = hiperlipoproteinemie
HDL = lipoproteine cu densitate mare (High density lipoprotein)
HMG = 3-hidroximetilglutaril-CoA reductaza
ICDH = izocitric dehidrogenaza
IDL = lipoproteine cu densitate intermediară
LP = lipoproteine
LPL = lipoproteinlipaza
LDL = lipoproteine cu densitate mică (Low density lipoprotein)

Scanned with OKEN Scanner

NAD+ = nicotinamidadenindinucleotid
NADH = nicotinamidadenindinucleotid redus
NADP+ — nicotinamidadenindinucleotid fosfat
NADPH = nicotinamidadenindinucleotid fosfat redus
OCT = ornitincarbamiltransferază
PEP-CK=fosfoenol piruvat — carboxikinaza
PCO = pseudocolinesteraza
SAG = sintetaza acizilor graşi
STH = hormonul somatotrop
TG = trigliceride
TG-VLDL = trigliceride conţinute în VLDL
TG-CHILO = trigliceride conţinute în chilomicroni
VHDL = lipoproteine cu densitate foarte mare
VLDL = lipoproteine cu densitate foarte mică.

Sensul utilizării unor termeni

„INPUT-OUTPUT" reprezintă transpunerea în biochimia dinamică a termenilor clasici utilizaţi în economie ;

— „INPUT" se referă la totalitatea proceselor metabolice şi cinetice prin care o substanţă pătrunde în **pool**-ul general al organismului (absorbţie, sinteză-anabolism) ;

— „Output" se referă la totalitatea proceselor metabolice şi cinetice prin care o substanţă iese din **pool**-ul general al organismului (eliminare, degradare-catabolism).

INTRĂRI-IEŞIRI se utilizează în acelaşi sens cu termenii „INPUT" şi „OUTPUT", dar cu referinţă numai la secvenţele cinetice.

INFLUX = pătrunderea unei substanţe în celulă (nu este sinonim cu aflux).

EFLUX = ieşirea unei substanţe din celulă (nu este sinonim cu reflux).

Scanned with OKEN Scanner

TABLA DE MATERII

Pag.

PREFAŢĂ 5

PRESCURTĂRI 9

I. INTRODUCERE 27

I.1. Definiţia şi conţinutul lipidologiei clinice 27
I.2. Structuralizarea lipidologiei clinice 30

Partea I

I. GENERALITĂŢI 35

I.1. Definiţia, clasificarea şi nomenclatura lipidelor 35

II. LIPIDELE ALIMENTARE 40

II. 1. Date generale 40
II. 2. Lipide animale 42
II. 3. Grăsimile vegetale 44
II. 4. Margarinele 45
II. 5. Grăsimile hidrogenate 46
II. 6. Transformări biochimice ale grăsimilor 47
II. 7. Lipidele din ou 48
II. 8. Lipidele din lapte 49
II. 9. Lipidele din carne 50
II.10. Lipidele şi alimentaţia parenterală 51
II.11. Lipidele în alimentaţia raţională a omului 54
Rezumat 55

Partea a II-a

I. LIPIDELE SERICE 59

I.1. Generalităţi 59
I.2. Colesterolul şi acizii biliari 59

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

I.2.1. Date generale despre colesterol 59
I.2.2. Dinamica colesterolului uman 60
I.2.3. Secvenţa ,,input'' în metabolismul colesterolului. 65
I.2.4. Secvenţa ,,output''. Catabolismul şi eliminarea colesterolului 81
I.2.5. Acizii biliari (generalităţi) 82
I.2.6. Cinetica acizilor biliari (Pool, Turnover, Compartimentare) 84
I.2.7. Biosinteza acizilor biliari 85
I.2.8. Reglarea generală a metabolismului colesterolului 90
I.3. Acizii graşi şi trigliceridele 97
I.3.1. Acizii graşi, generalităţi 97
I.3.2. Cinetica acizilor graşi liberi 99
I.3.3. Secvenţa ,,input'' în metabolismul acizilor graşi. Biosinteza acizilor graşi 112
I.3.4. Secvenţa ,,output'' a metabolismului acizilor graşi 122
I.3.5. Corpii cetonici 129
I.3.6. Trigliceridele — generalităţi 131
I.3.7. Secvenţa ,,input'' a metabolismului. T. G. 133
I.3.8. Secvenţe ,,output'' a metabolismului T. G. 134
I.3.9. Integrarea metabolismului A G. şi T G. 136
I.4. Fosfolipidele 155
I.4.1. Generalităţi 155
I.4.2. Pool-urile şi cinetica fosfolipidelor 158
I.4.3. Secvenţe ,,input'' a metabolismului fosfolipidic 159
I.4.4. Secvenţa ,,output'' a metabolismului fosfolipidic 164

II. LIPOPROTEINELE. 165

II.1. Introducere 165
II.1.1. Definiţie şi istoric 165
II.1.2. Caracteristici fizico-chimice generale 167
II.1.3. Organizarea structurală a LP 169
II.1.4. Apolipoproteinele 172
II.2. Chilomicronii 174
II.2.1. Introducere 174
II.2.2. Compoziţie lipidică a chilomicronilor umani 174
II.2.3. Compoziţie proteică a chilomicronilor umani 176
II.2.4. Secvenţa ,,input'' în metabolismul chilomicronilor 176
II.2.5. Secvenţa output în metabolismul chilomicronilor 183
II.3. Lipoproteinele cu densitate foarte joasă — VLDL 191
II.3.1. Introducere 191
II.3.2. Compoziţia lipidică a VLDL 192
II.3.3. Compoziţia proteică a VLDL 193
II.3.4. Secvenţa ,,input'' în metabolismul VLDL 194
II.3.5. Secvenţa ,,output'' în metabolismul VLDL 199
II.4. Lipoproteinele cu densitate joasă — LDL 202
II.4.1. Introducere 202
II.4.2. Compoziţia lipidică a LDL 202
II.4.3. Compoziţia proteică a LDL 203
II.4.4. Secvenţele ,,input'' — ,,output'' în metabolismul LDL 205
II.5. Lipoproteinele cu densitate crescută — HDL 206
II.5.1. Introducere 206
II.5.2. Compoziţia lipidică a HDL 206
II.5.3. Compoziţia proteică a HDL 208
II.5.4. Metabolismul HDL 209
II.5.5. Lizolecitin-colesterol-aciltransferaza (LCAT). 210
II.6. Reziduul ultracentrifugal 216
II.7. Lipoproteine ,,atipice'' 217
II.7.1. Extraprebeta — LP (prebeta$_1$ — LP) 217

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

II.7.2. Prebeta lipoproteinele lente 217
II.7.3. Sinking-prebeta — LP şi lipoproteina — Lp (a) 217

III. INTEGRAREA METABOLISMULUI LIPIDIC ŞI LIPOPROTEINIC ÎN CADRUL FUNCŢIEI GENERALE METABOLICE A ORGANISMULUI 219

III.1. Introducere 219
III.2. Cinetica lipidelor şi lipoproteinelor 220
III.2.1. Cinetica generală a lipoproteinelor 220
III.2.2. Cinetica corelativă a colesterolului şi lipoproteinelor plasmatice 221
III.2.3. Cinetica trigliceridelor (AGL-TG-VLDL) 223
III.3. Rolul hormonilor în reglarea metabolismului lipidic şi lipoproteinic 226
III.3.1. Mecanismul general de acţiune al hormonilor 226
III.3.2. Rolul insulinei în metabolismul lipidic şi lipoproteinic . . . 229
III.3.3. Rolul glucagonului în metabolismul lipidic şi lipoproteinic 242
III.3.4. Rolul catecolaminelor în metabolismul lipidic şi lipoproteinic 246
III.3.5. Rolul glucocorticoizilor în metabolismul lipidic şi lipoproteinic 249
III.3.6. Rolul ACTH-ului în metabolismul lipidic şi lipoproteinic 252
III.3.7. Rolul STH-ului în metabolismul lipidic şi lipoproteinic . . 253
III.3.8. Rolul hormonilor tiroidieni în metabolismul lipidic şi lipoproteinic 257
III.3.9. Influenţa hormonului tireotrop asupra metabolismului lipidic şi lipoproteic 258
III.3.10. Rolul hormonilor sexuali în metabolismul lipidic şi lipoproteinic 258
III.3.11. Rolul prostaglandinelor în metabolismul lipidic şi lipoproteinic 260
III.3.12. Rolul lipotropinelor în metabolismul lipidic şi lipoproteinic 261
III.4. Rolul alimentaţiei în reglarea metabolismului lipidic 261
III.4.1. Influenţa alimentaţiei asupra lipidelor şi lipoproteinelor serice 262
III.4.2. Influenţa alimentaţiei asupra metabolismului lipidic şi lipoproteinic 266
III.5. Rolul sistemului nervos în reglarea metabolismului lipidic şi lipoproteinic 279
III.5.1. Rolul sistemului nervos în reglarea comportamentului alimentar 279
III.5.2. Rolul sistemului nervos în mobilizarea lipidelor 281
III.6. Dinamica metabolismului lipidic şi lipoproteinic în funcţie de vîrstă 282
III.6.1. Modificările metabolismului lipidic în perioada de creştere 282
III.6.2. Modificarea metabolismului lipidic şi lipoproteinic în senescenţă 282
III.7. Concluzii generale 284

IV. METODE DE EXPLORARE A LIPIDELOR ŞI LIPOPROTEINELOR SANGUINE 289

IV.1. Generalităţi 289
IV.1.1. Importanţa problemei 289
IV.1.2. Standardizarea metodologică în lipidologie 290
IV.2. Recoltarea şi păstrarea sîngelui. Extracţia lipidelor 291
IV.2.1. Recoltarea mostrelor de sînge 291
IV.2.2. Păstrarea sîngelui total, a plasmei, sau a serului 297
IV.2.3. Transportul probelor de plasmă sau ser pentru dozarea lipidelor şi lipoproteinelor 297
IV.3. Extracţia lipidelor din plasmă sau ser 298
IV.3.1. Procedee de extracţie 298
IV.3.2. Purificarea extractelor lipidice 299
IV.3.3. Tratarea recipientelor 300

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

IV.4. Determinarea lipidelor în sînge 301
IV.4.1. Dozarea colesterolului 301
IV.4.2. Dozarea trigliceridelor 314
IV.4.3. Dozarea fosfolipidelor 325
IV.4.4. Dozarea acizilor graşi liberi 326
IV.4.5. Dozarea lipidelor totale 328
IV.4.6. Metode cromatografice 330
IV.4.7. Metode spectrometrice 331
IV.5. Determinarea lipoproteinelor în sînge 334
IV.5.1. Observarea plasmei — testul chilomicronilor 335
IV.5.2. Metode electroforetice 337
IV.5.3. Metode ultracentrifugale 358
IV.5.4. Alte metode 366
IV.5.5. Electrocromatografia 372
IV.5.6. Combinarea metodelor 374
IV.6. Determinarea activităţii LCAT 376
IV.7. Testul toleranţei la grăsimi 378
IV.7.1. Modificările lipidelor serice după încărcarea cu grăsimi . . . 378
IV.7.2. Testul toleranţei la grăsimi 379
IV.8. Determinarea activităţii LPL 382

V. NOSOLOGIA STĂRILOR HIPERLIPIDEMIANTE-HIPERLIPOPROTEINEMIANTE 385

V.1. Introducere 385
V.2. Clasificarea stărilor hiperlipidemice-hiperlipoproteinemice 386
V.2.1. Clasificarea propusă de O.M.S. 387
V.2.2. Alte clasificări 390
V.3. Etapele diagnosticului stărilor hiperlipidemice-hiperlipoproteinemice . . 394
V.3.1. Examenul clinic al bolnavului 397
V.3.2. Explorări paraclinice 399
V.3.3. Testele dietetice 412
V.3.4. Consultul interdisciplinar 412
V.3.5. Enunţarea diagnosticului 412
V.4. Mecanisme generale hiperlipidemice-hiperlipoproteinemice 413

VI. HIPERLIPOPROTEINEMII PRIMARE 417

VI.1. Hiperlipoproteinemia familială tip I 417
VI.1.1. Cadrul nosologic 417
VI.1.2. Tabloul clinic 418
VI.1.3. Tabloul biochimic 419
VI.1.4. Criterii diagnostice 420
VI.1.5. Patologie biochimică şi fiziopatologie 420
VI.1.6. Anatomie patologică 423
VI.1.7. Genetică 423
VI.2. Hiperlipoproteinemia familială tip II 424
VI.2.1. Cadrul nosologic 424
VI.2.2. Tabloul clinic 424
VI.2.3. Tabloul biochimic 427
VI.2.4. Criterii diagnostice 429
VI.2.5. Patologie biochimică. Fiziopatologie 429
VI.2.6. Anatomie patologică şi histopatologie 435
VI.2.7. Genetica 436
VI. 3. Hiperlipoproteinemia familială tip III 437
VI.3.1. Cadrul nosologic 438
VI.3.2. Tabloul clinic 438
VI.3.3. Tabloul biochimic 440
VI.3.4. Criterii diagnostice 441
VI.3.5. Patologie biochimică şi fiziopatologie 441

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

VI.3.6. Anatomie patologică 442
VI.3.7. Genetică 442
VI. 4. Hiperlipoproteinemia familială tip IV 442
VI.4.1. Cadrul nosologic 443
VI.4.2. Tabloul clinic 443
VI.4.3. Tabloul biochimic 444
VI.4.4. Criterii diagnostice 446
VI.4.5. Patologie biochimică şi fiziopatologie 447
VI.4.6. Anatomie patologică 447
VI.4.7. Genetică 448
VI. 5. Hiperlipoproteinemia familială tip V 448
VI.5.1. Cadrul nosologic 448
VI.5.2. Tabloul clinic 448
VI.5.3. Tabloul biochimic 449
VI.5.4. Criterii de diagnostic 449
VI.5.5. Patologie biochimică 450
VI.5.6. Anatomie patologică 451
VI.5.7. Genetică 451
VI. 6. Pancreatitele şi hiperlipoproteinemia 451
VI.6.1. Introducere — Cadrul nosologic 452
VI.6.2. Tabloul clinic şi biochimic 452
VI.6.3. Patologie biochimică şi fiziopatologie 452
VI. 7. Hiperlipoproteinemia alcoolică 453
VI.7.1. Cadrul nosologic 454
VI.7.2. Tabloul clinic şi biochimic 454
VI.7.3. Patologie biochimică şi fiziopatologie 455
VI.7.4. Sindromul Zieve 455
VI. 8. Hiperlipoproteinemia de stress 458
VI.8.1. Introducere — Cadrul nosologic 459
VI.8.2. Tabloul clinic şi biochimic 459
VI.8.3. Patologie biochimică şi fiziopatologie 459
VI. 9. Hiperlipoproteinemia din diabetul zaharat, obezitate şi patoalimentaţia excedentară 460
VI.9.1. Introducere — Cadrul nosologic 461
VI.9.2. Hiperlipidemia-hiperlipoproteinemia din diabetul zaharat . . 461
VI.9.3. Hiperlipoproteinemia din patoalimentaţia excedentară şi obezitate 462
VI.9.4. Patologie biochimică şi fiziopatologie. Interrelaţii patogenetice 474
VI.9.5. Privire integrativă asupra hiperlipoproteinemiilor din obezitate şi diabetul zaharat 474
VI.10. Hiperlipoproteinemiile primare iatrogene 499
VI.10.1. Introducere — Cadrul nosologic 504
VI.10.2. HLP induse de hormoni sexuali 504
VI.10.3. HLP steroid indusă 504
VI.10.4. HLP tiazidic indusă 506
VI.11. Hiperalfalipoproteinemia 506

VII. HIPERLIPIDEMII — HIPERLIPOPROTEINEMII SECUNDARE 508

VII.1. Introducere — Cadrul nosologic 508
VII.2. Hiperlipidemii — hiperlipoproteinemii în boli endocrine 508
VII.2.1. Hipotiroidismul 508
VII.2.2. Hipertiroidismul 509
VII.2.3. Alte endocrinopatii 510
VII.3. Hiperlipidemii — hiperlipoproteinemii în boli renale 511
VII.3.1. Sindromul nefrotic 511
VII.3.2. Insuficienţa renală şi uremia 512
VII.3.3. Stările posttransplant renal 514

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

VII.4. Hiperlipidemii-hiperlipoproteinemii în bolile hepatobiliare 514
VII.4.1. Hepatite, ciroze postnecrotice şi portale 514
VII.4.2. Colecstaza intra- şi extrahepatică 515
VII.5. Hiperlipidemii-hiperlipoproteinemii de cauză imunologică 515
VII.6. Hiperlipidemii-hiperlipoproteinemii din gută şi hiperuricemii 516
VII.7. Alte forme de HLP — secundare 517
VII.7.1. Hiperlipidemii-hiperlipoproteinemii din glicogenoze 517
VII.7.2. HLP din porfirii 517
VII.7.3. HLP din anaalbuminemii 518
VII.7.4. HLP din infecţii 518
VII.7.5. HLP din bolile musculoarticulare 518
VII.7.6. HLP în bolile neuropsihice 519
VII.7.7. HLP din boala ulceroasă 519
VII.7.8. HLP în bolile maligne 519

VIII. **EPIDEMIOLOGIA HIPERLIPIDEMIILOR HIPERLIPOPROTEINEMIILOR** . . . 520
VIII.1. Generalităţi 520
VIII.2. Metodologia cercetării epidemiologice în lipidologie 522
VIII.3. Aprecierea ,,normalului'' şi ,,patologicului'' în lipidologia clinică . . . 523
VIII.4. Date epidemiologice privind lipidele şi lipoproteinele serice la subiecţii normali 528
VIII.4.1. Vîrsta şi sexul 528
VIII.4.2. Alimentaţia 530
VIII.4.3. Activitatea fizică 531
VIII.4.4. Profesia, gradul de cultură şi educaţie 531
VIII.4.5. Variaţia individuală sezonieră 532
VIII.4.6. Fumatul 532
VIII.4.7. Factorul geografic şi etnic 532
VIII.4.8. Alţi factori 532
VIII.5. Date epidemiologice asupra HL—HLP 533
VIII.5.1. Frecvenţa 533
VIII.5.2. Vîrsta şi sexul 537
VIII.5.3. Greutatea corporală 538
VIII.5.4. Alimentaţia 539
VIII.5.5. Regimul de activitate fizică 539
VIII.5.6. Profesia 541
VIII.5.7. Alţi factori 541
VIII.6. Date epidemiologice asupra hiperlipidemiei şi hiperlipoproteinemiei ca factori de risc vascular 541
VIII.6.1. Hiperlipidemia şi hiperlipoproteinemia factori de risc în ateroscleroza coronariană 541
VIII.6.2. Ateroscleroză cerebrală 548
VIII.6.3. Ateroscleroza periferică oclusivă 549
VIII.6.4. Macroangiopatia diabetică 550
VIII.6.5. Hiperlipidemia-hiperlipoproteinemia corelativ cu alţi factori de risc vascular 552
VIII.7. Istoria naturală a hiperlipidemiilor-hiperlipoproteinemiilor 553

IX. **PROFILAXIA HIPERLIPIDEMIILOR-HIPERLIPOPROTEINEMIILOR** 556

IX.1. Problematica profilaxiei stărilor HL—HLP 556
IX.1.1. Decizia programului profilaxiei stărilor hiperlipidemiante-hiperlipoproteinemiante 556
IX.1.2. Acţiunile programului profilactic în stările HL—HLP . . . 557
IX.2. Profilaxia primară a HL—HLP 559
IX.2.1. Depistarea factorilor de risc HL—HLP 559
IX.2.2. Ameliorarea şi suprimarea factorilor de risc HL—HLP . . . 561

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

IX.3. Profilaxia secundară a HL—HLP 562
IX.3.1. Depistarea activă a stărilor hiperlipidemiante-hiperlipoproteinemiante 562
IX.3.2. Tratamentul precoce al stărilor HL—HLP 563
IX.4. Profilaxia terţiară a stărilor HL—HLP 564

X. TRATAMENTUL STĂRILOR HL—HLP 565
X. 1. Problematica terapiei stărilor HL—HLP 565
X. 2. Tratamentul dietetic al stărilor HL—HLP 566
X.2.1. Generalităţi 566
X.2.2. Dietetica generală. 568
X.2.3. Indicaţii dietetice în stările hiperlipidemiante-hiperlipoproteinemiante corelativ cu profilaxia aterosclerozei 570
X.2.4. Regimul dietetic în diferite tipuri de hiperlipoproteinemii 574
X.2.5. Aplicarea practică a măsurilor dietetice, educarea şi controlul bolnavilor 580
X.2.6. Utilizarea trigliceridelor cu lanţuri mijlocii 581
X. 3. Colestiramina 584
X.3.1. Generalităţi 584
X.3.2. Mecanism de acţiune 584
X.3.3. Indicaţii, posologie, eficacitate 584
X.3.4. Efecte adverse, precauţii, contraindicaţii 585
X. 4. Clofibratul 585
X.4.1. Generalităţi 585
X.4.2. Mecanism de acţiune 585
X.4.3. Indicaţii, posologie, eficacitate 587
X.4.4. Efecte adverse, precauţii, contraindicaţii 588
X. 5. Dextrotiroxina 588
X.5.1. Generalităţi 588
X.5.2. Mecanism de acţiune 589
X.5.3. Indicaţii, posologie, eficienţă 589
X.5.4. Efecte adverse, precauţii, contraindicaţii 589
X. 6. Acidul nicotinic 590
X.6.1. Generalităţi 590
X.6.2. Mecanism de acţiune 590
X.6.3. Indicaţii, posologie, eficienţă 591
X.6.4. Efecte adverse, precauţie, contraindicaţii 591
X. 7. Alte medicamente hipolipidemiante 592
X.7. 1. Sitosterolul (Phytosterolul) 592
X.7. 2. Colestipolul 592
X.7. 3. Acizii acetici de substituire 592
X.7. 4. Estrogenii şi androgenii 593
X 7. 5. Heparina 593
X.7. 6. Fosfolipidele esenţiale 593
X.7. 7. Preparatele de calciu 593
X.7. 8. Vitamina C 594
X.7. 9. Preparate pe bază de iod 594
X.7.10. Neomicina 594

2—c. 230

348.266

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

X.7.11. Biguanidele 594
X.7.12. Alte preparate 595
X. 8. Cultura fizică 595
X.8.1. Generalităţi 595
X.8.2. Mecanisme de acţiune 595
X.8.3. Indicaţii, metodologie, eficienţă 596
X. 9. Tratamentul chirurgical 597
X.10. Selectarea metodologiei în terapia stărilor HL—HLP 598
X.10.1. Tratamentul hiperlipoproteinemiei tip I 598
X.10.2. Tratamentul hiperlipoproteinemiei tip II A 598
X.10.3. Tratamentul hiperlipoproteinemiei tip II B 599
X.10.4. Tratamentul hiperlipoproteinemiei tip III 599
X.10.5. Tratamentul hiperlipoproteinemiei tip IV 600
X.10.6. Tratamentul hiperlipoproteinemiei tip V 600
X.10.7. Tratamentul stărilor hiperlipidemiante-hiperlipoproteinemiante în circumstanţe deosebite 600
X.11. Concluzii 602

XI. STĂRILE HIPOLIPIDEMICE-HIPOLIPOPROTEINEMICE 603
Anexe 605
Bibliografie 619
Summary 661
Index tematic selectiv 675

Scanned with OKEN Scanner

CONTENTS

Pag.

FOREWORD 5
ABBREVIATION 9

I. INTRODUCTION 27

I.1. The definition and contents of clinical lipidology 27
I.2. The structuralization of clinical lipidology 30

Part. I

I. GENERAL 35

I.1. Lipids, their definition, classification and nomenclature 35

II. ALIMENTARY LIPIDS 40

II. 1. General data 40
II. 2. Animal fats 42
II. 3. Plant oils 44
II. 4. Margarine 45
II. 5. Hydrogenated fats 46
II. 6. Biochemical transformation of fats 47
II. 7. Egg lipids 48
II. 8. Milk lipids 49
II. 9. Meat lipids 50
II.10. Lipids and parenteral alimentation 51
II.11. Lipids in the rational alimentation of man 54
Summary 55

Part. II

I. SERUM LIPIDS 59

I.1. General 59
I.2. Cholesterol and biliary acids 59

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

I.2.1. General data on cholesterol 59
I.2.2. Dynamics of human cholesterol 60
I.2.3. Input sequence in cholesterol metabolism 65
I.2.4. Output sequence. The catabolism and elimination of cholesterol 81
I.2.5. Biliary acids (general) 82
I.2.6. Kinetics of biliary acids (pool, turnover) 84
I.2.7. Biosynthesis of biliary acids 85
I.2.8. General regulation of cholesterol metabolism 90
I.3. Fatty acids and triglycerides 97
I.3.1. Fatty acids (general) 97
I.3.2. Kinetics of free fatty acids 99
I.3.3. Input sequence in the metabolism o fatty acids 112
I.3.4. Output sequence in the metabolism of fatty acids 122
I.3.5. Ketone bodies 129
I.3.6. Triglycerides — general 131
I.3.7. Input sequence of triglyceride metabolism 133
I.3.8. Output sequence of triglyceride metabolism 134
I.3.9. Integration of fatty acid and triglyceride metabolism . . . 136
I.4. Phospholipids 155
I.4.1. General 155
I.4.2. Phospholipid pools and kinetics 158
I.4.3. Input sequence of phospholipid metabolism 159
I.4.4. Output sequence of phospholipid metabolism 164

II. LIPOPROTEINS 165

II.I. Introduction 165
II.1.1. Definition and history 165
II.1.2. General physico-chemical characteristics 167
II.1.3. Structural organization of lipoproteins 169
II.1.4. Apolipoproteins 172
II.2. Chylomicrons 174
II.2.1. Introduction 174
II.2.2. Lipid composition of human chylomicrons 174
II.2.3. Protein composition of human chylomicrons 176
II.2.4. Input sequence of chylomicron metabolism 176
II.2.5. Output sequence of chylomicron metabolism 183
II.3. Very low density lipoproteins — VLDL 191
II.3.1. Introduction 191
II.3.2. Lipid composition of VLDL 192
II.3.3. Protein composition of VLDL 193
II.3.4. Input sequence of VLDL metabolism 194
II.3.5. Output sequence of VLDL metabolism 199
II.4. Low density lipoproteins — LDL 202
II.4.1. Introduction 202
II.4.2. Lipid composition of LDL 202
II.4.3. Protein composition of LDL 203
II.4.4. Input and output sequences in LDL metabolism 205
II.5. High density lipoproteins — HDL 206
II.5.1. Introduction 206
II.5.2. Lipid composition of HDL 206
II.5.3. Protein composition of HDL 208
II.5.4. HDL metabolism 209
II.5.5. Lysolecithin-cholesterol-acyltransferase (LCAT) 210
II.6. Ultracentrifugation residue 216
II.7.Atypical Lipoproteins 217

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

III. LIPID AND LIPOPROTEIN METABOLISM INTEGRATION IN THE GENERAL METABOLIC FUNCTION OF THE ORGANISM 219

III.1. Introduction 219
III.2. Kinetics of lipids and lipoproteins 220
III.2.1. General kinetics of lipoproteins 220
III.2.2. Correlative kinetics of cholesterol and plasma lipoproteins . . 221
III.2.3. Kinetics of triglycerides (FFA—TG—VLDL) 223
III.3. The role of hormones in the regulation of lipid and lipoprotein metabolism 226
III.3. 1. General hormonal mechanism of action 226
III.3. 2. Role of insulin in lipid and lipoprotein metabolism 229
III.3. 3. Role of glucagon in lipid and lipoprotein metabolism . . . 242
III.3. 4. Role of catecholamines in lipid and lipoprotein metabolism 246
III.3. 5. Role of glucocorticoids in lipid and lipoprotein metabolism 249
III.3. 6. Role of ACTH in lipid and lipoprotein metabolism 252
III.3. 7. Role of STH in lipid and lipoprotein metabolism 253
III.3. 8. Role of thyroid hormones in lipid and lipoprotein metabolism 257
III.3. 9. Influence of the thyrotropic hormone on lipid and lipoprotein metabolism 258
III.3.10. Role of the sex hormones on lipid and lipoprotein metabolism 258
III.3.11. Role of prostaglandins in lipid and lipoprotein metabolism 260
III.3.12. Role of lipotropins in lipid and lipoprotein metabolism . . . 261
III.4. The role of alimentation in the regulation of lipid metabolism 261
III.4.1. Influence of food on serum lipids and lipoproteins 262
III.4.2. Influence of food on lipid and lipoprotein metabolism . . . 266
III.5. Role of the nervous system in the regulation of lipid and lipoprotein metabolism 279
III.5.1. Role of the nervous system in regulation of nutritional behaviour 279
III.5.2. Role of the nervous system in lipid mobilization 281
III.6. Dynamics of lipid and lipoprotein metabolism in terms of age 282
III.6.1. Lipid metabolic changes in the growth period 282
III.6.2. Lipid and lipoprotein metabolic changes in senescence . . . 282
III.7. General conclusions 284

IV. METHODS OF EXPLORATION OF SERUM LIPIDS AND LIPOPROTEINS 289

IV.1. General 289
IV.1.1. Important problems 289
IV.1.2. Standard methods in lipidology 290
IV.2. Collection and storage of blood. Lipid extraction 291
IV.2.1. Collection of blood samples 291
IV.2.2. Storage of total blood, plasma or serum 297
IV.2.3. Transport of plasma or serum samples for lipid and lipoprotein determinations 297
IV.3. Lipid extraction from plasma or serum 298
IV.3.1. Extraction procedures 298
IV.3.2. Purification of lipid extracts 299
IV.3.3. Treatment of recipients 300
IV.4. Determination of blood lipids 301
IV.4.1. Determination of cholesterol 301
IV.4.2. Determination of triglycerides 314
IV.4.3. Determination of phospholipids 325
IV.4.4. Determination of free fatty acids 326
IV.4.5. Determination of total lipids 328
IV.4.6. Chromatographic methods 330
IV.4.7. Spectrophotometric methods 331
IV.5. Determination of blood lipoproteins 334
IV.5.1. Observation of the plasma 335

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

IV.5.2. Electrophoretic methods 337
IV.5.3. Ultracentrifugation 358
IV.5.4. Other methods 366
IV.5.5. Electrochromatography 372
IV.5.6. Combined methods 374
IV.6. Determination of LCAT activity 376
IV.7. Tolerance test to fats 378
IV.7.1. Serum lipid alterations after fatty loading 378
IV.7.2. Tolerance test to fats 379
IV.8. Determination of LPL activity 382

V. THE NOSOLOGY OF HYPERLIPIDEMIA-HYPERLIPOPROTEINEMIA STATES 385
V.1. Introduction 385
V.2. Classification of hyperlipidemia-hyperlipoproteinemia states 386
V.2.1. Classification proposed by W.H.O. 387
V.2.2. Other classifications 390
V.3. Diagnostic stages in hyperlipidemia and hyperlipoproteinemia states 394
V.3.1. Clinical examination of the patient 397
V.3.2. Paraclinical exploration 399
V.3.3. Dietetical tests 412
V.3.4. Interdisciplinary consultation 412
V.3.5. The diagnosis 412
V.4. HL—HLP—General mechanisms 413

VI. PRIMARY HYPERLIPOPROTEINEMIA 417
VI. 1. Familial primary hyperlipoproteinemia type I 417
VI.1.1. Nosologic framework 417
VI.1.2. Clinical picture 418
VI.1.3. Biochemical picture 419
VI.1.4. Diagnostic criteria 420
VI.1.5. Pathologic biochemistry and physiology 420
VI.1.6. Pathologic anatomy 423
VI.1.7. Genetics 423
VI. 2. Familial hyperlipoproteinemia type II 424
VI.2.1. Nosologic framework 424
VI.2.2. Clinical picture 424
VI.2.3. Biochemical picture 427
VI.2.4. Diagnostic criteria 429
VI.2.5. Pathologic biochemistry and physiology 429
VI.2.6. Pathologic anatomy and histology 435
VI.2.7. Genetics 436
VI. 3. Familial hyperlipoproteinemia type III 437
VI.3.1. Nosologic framework 438
VI.3.2. Clinical picture 438
VI.3.3. Biochemical picture 440
VI.3.4. Diagnostic criteria 441
VI.3.5. Pathologic biochemistry and physiology 441
VI.3.6. Pathologic anatomy 442
VI.3.7. Genetics 442
VI. 4. Familial hyperlipoproteinemia type IV 443
VI.4.1. Nosologic framework 443
VI.4.2. Clinical picture 444
VI.4.3. Biochemical picture 446
VI.4.4. Diagnostic criteria 447
VI.4.5. Pathologic biochemistry and physiology 447
VI.4.6. Pathologic anatomy 448
VI.4.7. Genetics 448
VI. 5. Familial hyperlipoproteinemia type V 448
VI.5.1. Nosologic framework 448

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

VI.5.2. Clinical picture 449
VI.5.3. Biochemical picture 449
VI.5.4. Diagnostic criteria 450
VI.5.5. Biochemical pathology 451
VI.5.6. Pathologic anatomy 451
VI.5.7. Genetics 451
VI. 6. Pancreatitis and hyperlipoproteinemia 452
VI.6.1. Introduction — nosologic framework 452
VI.6.2. Clinical and biochemical picture 452
VI.6.3. Pathologic biochemistry and physiology 453
VI. 7. Alcoholic hyperlipoproteinemia 454
VI.7.1. Nosologic framework 454
VI.7.2. Clinical and biochemical picture 455
VI.7.3. Pathologic biochemistry and physiology 455
VI.7.4. Zieve syndrome 458
VI. 8. Stress hyperlipoproteinemia 459
VI.8.1. Introduction — Nosologic framework 459
VI.8.2. Clinical and biochemical picture 459
VI.8.3. Pathologic biochemistry and physiology 460
VI. 9. Hyperlipoproteinemia in diabetes mellitus, obesity and excess pathoalimentation 461
VI.9.1. Introduction — Nosologic framework 461
VI.9.2. Hyperlipidemia and hyperlipoproteinemia in diabetes . . . 462
VI.9.3. Hyperlipoproteinemia in obesity and excess pathoalimentation 474
VI.9.4. Pathologic biochemistry and physiology. Pathogenetic interrelations 474
VI.9.5. Integration of hyperlipoproteinemias in obesity and diabetes mellitus 499
VI.10. Primary iatrogenic hyperlipoproteinemias 504
VI.10.1. Introduction — Nosologic framework 504
VI.10.2. HLP induced by sex hormones 504
VI.10.3. Steroid induced HLP 506
VI.10.4. Thiazide induced HLP 506
VI.11. Hyperalphalipoproteinemia 506

VII. SECONDARY HYPERLIPIDEMIA-HYPERLIPOPROTEINEMIA 508

VII.1. Introduction — nosologic framework 508
VII.2. Hyperlipidemia-hyperlipoproteinemia in endocrine diseases 508
VII.2.1. Hypothyroidism 508
VII.2.2. Hyperthyroidism 509
VII.2.3. Other endocrinopathies 510
VII.3. Hyperlipidemia-hyperlipoproteinemia in renal diseases 511
VII.3.1. Nephrotic syndrome 511
VII.3.2. Renal insufficiency and uremia 512
VII.3.3. Posttransplant renal states 514
VII.4. Hyperlipidemia-hyperlipoproteinemia in hepatobiliary diseases . . . 514
VII.4.1. Hepatitis, postnecrotic and portal cirrhosis 514
VII.4.2. Intra- and extrahepatic cholostasis 515
VII.5. Hyperlipidemia-hyperlipoproteinemia of immune cause 515
VII.6. Hyperlipidemia-hyperlipoproteinemia in gout and hyperuricemia . . . 516
VII.7. Other forms of secondary HLP 517
VII.7.1. HLP in glycogenosis 517
VII.7.2. HLP in porphyria 517
VII.7.3. HLP in albuminemia 518
VII.7.4. HLP in infections 518
VII.7.5. HLP in musculoarticular diseases 518

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

VII.7.6. HLP in neuropsychical diseases 519
VII.7.7. HLP in the ulcerous disease 519
VII.7.8. HLP in malignant diseases 519

VIII. THE EPIDEMIOLOGY OF HYPERLIPOPROTEINEMIAS 520

VIII.1. General 520
VIII.2. The methodology of epidemiologic investigations in lipidology 522
VIII.3. Assessing the ,,normal" and ,,pathologic" in Clinical lipidology 523
VIII.4. Epidemiologic data on serum lipids and lipoproteins in normal subjects 528
VIII.4.1. Age and sex 528
VIII.4.2. Alimentation 530
VIII.4.3. Physical activity 531
VIII.4.4. Occupation, degree of culture and education 531
VIII.4.5. Seasonal individual variations 532
VIII.4.6. Smoking 532
VIII.4.7. Geographical and ethnical factors 532
VIII.4.8. Other factors 532
VIII.5. Epidemiological data on HL—HLP states 533
VIII.5.1. Incidence 533
VIII.5.2. Age and sex 537
VIII.5.3. Body weight 538
VIII.5.4. Alimentation 539
VIII.5.5. Physical activity regimen 539
VIII.5.6. Occupation 541
VIII.5.7. Other factors 541
VIII.6. Epidemiologic data on HL—HLP as vascular risk factors 541
VIII.6.1. HL—HLP risk factors in coronary atherosclerosis 541
VIII.6.2. Cerebral atherosclerosis 548
VIII.6.3. Peripheral obstructive atherosclerosis 549
VIII.6.4. Diabetic macroangiopathy 550
VIII.6.5. HL—HLP and other vascular risk factors 552
VIII.7. Natural history of HL—HLP. 553

IX. PROPHYLAXIS OF HL—HLP STATES 556

IX.1. Problems in the prophylaxis of HL—HLP states 556
IX.1.1. Establishing the programme of prevention of HL—HLP . 556
IX.1.2. Application of the preventive programme in HL—HLP . 557
IX.2. Primary prevention in HL—HLP states 559
IX.2.1. Detection of HL—HLP risk factors 559
IX.2.2. Improvement and suppression of HL—HLP risk factors 561
IX.3. Secondary prevention in HL—HLP states 562
IX.3.1. Active detection of HL—HLP 562
IX.3.2. Early treatment of HL—HLP 563
IX.4. Tertiary prevention of HL—HLP states 564

X. TREATMENT OF HL—HLP STATES 565

X. 1. Therapeutical problems in HL—HLP states 565
X. 2. Dietetic treatment of HL—HLP 566
X.2.1. General 566
X.2.2. General diet. 568
X.2.3. Dietetic indications in HL—HLP states correlated with the prevention of atherosclerosis 570
X.2.4. The diet in various types of HLP 574
X.2.5. The application of dietetic measures, education and control of the patients 580
X.2.6. The use of triglycerides with mean chains 581

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

X. 3. Cholesteramine
X.3.1. General 584
X.3.2. Mechanism of action 584
X.3.3. Indications, posology, effectiveness 584
X.3.4. Adverse effects, precautions, contraindications 584
X. 4. Clofibrate 585
X.4.1. General 585
X.4.2. Mechanism of action 585
X.4.3. Indications, posology, effectiveness 585
X.4.4. Adverse effects, precautions, contraindications 587
X. 5. Dextrothyroxine 588
X.5.1. General 588
X.5.2. Mechanism of action 588
X.5.3. Indications, posology, effectiveness 589
X.5.4. Adverse effects, precautions, contraindications 589
X. 6. Nicotinic acid 589
X.6.1. General 590
X.6.2. Mechanism of action 590
X.6.3. Indications, posology, effectiveness 590
X.6.4. Adverse effects, precautions, contraindications 591
X. 7. Other hypolipidemia-inducing drugs 591
X.7. 1. Sitosterol (Phytosterol) 592
X.7. 2. Cholestipol 592
X.7. 3. Substitution acetic acids 592
X.7. 4. Estrogens and androgens 592
X.7. 5. Heparin 593
X.7. 6. Essential phospholipids 593
X.7. 7. Calcium products 593
X.7. 8. Vitamin C 593
X.7. 9. Products on an iodine basis 594
X.7.10. Neomycin 594
X.7.11. Biguanides 594
X.7.12. Other drugs 594
X. 8. Physical education 595
X.8.1. General 595
X.8.2. Mechanism of action 595
X.8.3. Indications, methodology, effectiveness 595
X. 9. Surgical treatment 596
X.10. Selection of the methodology in the treatment of HL—HLP 597
X.10.1. Treatment of HLP type I 598
X.10.2. Treatment of HLP type II a 598
X.10.3. Treatment of HLP type II b 598
X.10.4. Treatment of HLP type III 599
X.10.5. Treatment of HLP type IV 599
X.10.6. Treatment of HLP type V 600
X.10.7. Treatment of HL—HLP states in special circumstances 600
X.11. Conclusions 602

XI. HYPOLIPIDEMIA-HYPOLIPOPROTEINEMIA STATES 603

Annexes 605
References 619
Summary 661
Selective Thematic Index 675

Scanned with OKEN Scanner

INTRODUCERE

I.1. DEFINIȚIA ȘI CONȚINUTUL LIPIDOLOGIEI CLINICE

Lipidologia clinică, are drept obiectiv studiul rolului lipidelor în viața omului sănătos și bolnav. Aceasta implică descrierea lipidelor alimentare, studiul comportamentului biochimic al lipidelor și lipoproteinelor și rolul pe care-l au acestea în patologia umană (dintre care menționăm stările hiperlipidemiante — hiperlipoproteinemiante, obezitatea și, în mod special, ateroscleroza).

Prin dimensiunile sale crossectionale lipidologia clinică este tangentă cu biochimia medicală, nutriția omului normal, disnutriția, unele boli de metabolism ș.a. În cadrul lor, tangența se extinde asupra geneticii, pediatriei, cardiologiei, epidemiologiei și profilaxiei bolilor cronice netransmisibile, farmacologiei clinice etc.

Prin dimensiunile sale longitudinale, prospective, lipidologia clinică va contribui alături de studiile celorlalte metabolisme (glucide, proteine etc.) și a altor factori de risc la problema acestei „mari boli arteriale umane care este ateroscleroza".

★

În majoritatea țărilor din lume mortalitatea prin afecțiunile cardiovasculare ocupă primul loc. În Anglia, spre exemplu, boala coronariană singură explică moartea a 25% din cazuri, procentul fiind încă și mai mare în S.U.A. unde mortalitatea prin ateroscleroză coronariană, cerebrală și periferică crește pînă la 54%. În România mortalitatea prin boli cardio-vasculare crește de la 10—12% cît era în anul 1930 la 46,34% din mortalitatea generală.

Mortalitatea prin infarct miocardic sub vîrsta de 40 de ani s-a triplat în ultimii 15 ani în țările dezvoltate.

Prevenirea oricăror boli presupune cunoașterea circumstanțelor de apariție, a factorilor implicați în etiopatogenia bolii și a modului lor de acțiune. În prezent, efortul precizării factorilor de risc au dus la

cunoașterea „profilului" candidaților la boala ischemică coronariană în particular și a aterosclerozei în general. Determinarea aterosclerozei este multifactorială, diferiții factori etiologici implicați (hiperlipoproteinemia, hipertensiunea arterială, toleranța scăzută la glucide, fumatul etc.) avînd un efect aditiv.

Numeroase date epidemiologice, clinice și experimentale indică existența unei relații *evidente* între creșterea lipidelor plasmatice și ateroscleroză și foarte posibil o relație *cauzală,* fără însă a se putea preciza dacă hiperlipidemia este factorul esențial sau inițiator al procesului aterogenetic. Întrucît există cazuri de ateroscleroză care nu se însoțesc de hiperlipemie, unii autori se îndoiesc sau chiar neagă rolul tulburărilor lipidice în geneza procesului aterogen. Totuși, în favoarea rolului hiperlipidemiilor în geneza procesului aterogen vin o serie de date care pot fi sumarizate astfel : leziunile aterosclerotice conțin în cea mai mare parte lipide ; creșterea experimentală, la animale, a lipidelor plasmatice prin diete cu grăsimi în exces, duce la apariția de leziuni aterosclerotice ; frecvența crescută a complicațiilor aterosclerotice la bolnavii cu hiperlipidemie. Țările în care media valorilor colesterolului în populația generală este mai mare, prezintă indicii și procentele cele mai mari de afecțiuni cardiovasculare, în timp ce acelea cu valori mai mici raportează, în general, și procentele cele mai mici de ateroscleroză ; frecvența crescută a hiperlipemiilor la bolnavii cu ateroscleroză ; studiile prospective, ca cel efectuat în Framingham care au subliniat relația strînsă între valorile colesterolului și apariția ulterioară a leziunilor aterosclerotice.

Avînd la bază datele epidemiologice și cunoscînd reversibilitatea parțială a leziunilor aterosclerotice, numeroși autori consideră că, la bolnavii cu lipidele plasmatice crescute, una din măsurile principale de prevenție și, poate, de regresiune a modificărilor vasculare este scăderea lipidelor plasmatice.

În S.U.A. s-au înființat 6 clinici de cercetare lipidologică (National Lipid Research Clinics), 13 centre specializate de cercetare în ateroscleroză și 15 supercentre interdisciplinare avînd același obiectiv — prevenirea aterosclerozei prin depistarea, studiul R și tratarea hiperlipoproteinemiilor și a celorlalți factori de risc. Este demn de remarcat că acestea au loc într-o țară în care hiperlipidemia și ateroscleroza, alături de cancer, reprezentau obiective prioritare de cercetare încă din jurul anului 1950.

Acest lucru este însă necesar astăzi cînd se cunoaște rolul lipidelor plasmatice în geneza aterosclerozei.

Este necesar astăzi cînd se cunoaște din ce în ce mai bine, datorită clasificării hiperlipoproteinemiilor introduse de Fredrickson, Lees și Levy, tipul și frecvența tipului de hiperlipoproteinemie.

Acțiunile de profilaxie a aterosclerozei inițiate în S.U.A. în urmă cu peste 25 de ani demonstrează că scăderea numai cu 10% a valorilor colesterolului seric la bolnavii hipercolesterolemici are drept consecință

reducerea incidenței cardiopatiei ischemice cu 2,4%, iar a mortalității prin cardiopatie cu 6,1% adică 2,9% din toate cazurile de mortalitate. Aceasta echivalează cu evitarea morții pentru cel puțin 7 000 de oameni anual. Berkovitz consideră pe baza observațiilor sale că scăderea colesterolului cu 15—20% ar reduce riscul bolii ischemice coronariene cu 35% și respectiv 60%. Întrucît regimul corect aplicat este capabil să scadă în mod evident concentrația lipidelor plasmatice, în numeroase țări au fost inițiate ample programe ce vizează introducerea pe scară națională a unor norme de alimentație cît mai rațională.

Datele de epidemiologie, deși există puține investigații în populația generală, arată că frecvența hiperlipoproteinemiilor este surprinzător de mare. Deși Lehman și Lines cercetează numai hipercolesterolemia și hipertrigliceridemia, ei găsesc o frecvență a acestora la 20,9% la indivizii „sănătoși" între 25 și 65 de ani, iar Lewis la 17% dintre bărbați și 8% dintre femeile de vîrstă între 20 și 69 de ani. Se consideră că aproximativ 20% dintre americanii sănătoși prezintă o HLP, deși Wood găsește pe o populație relativ omogenă considerată „normală" că incidența HLP este de 17,8% la bărbați și 11,2% la femei.

Pe lotul investigat de noi, unul dintre cele mai mari loturi cercetate, 7 085 indivizi neselecționați reprezentînd 84,52 din populația adultă (25—65 ani) a unei zone din orașul București, incidența HLP a fost de 14,29% (și anume 14,88% la bărbați și 13,78% la femei).

În țara noastră, construirea societății socialiste multilateral dezvoltate, creșterea prosperității în contextul politicii economice cu pregnantă alură industrială, va fi dominanta anilor care vor urma. Va avea oare aceasta vreo repercusiune asupra potențialului bio-socio-uman ? Va fi influențat corpul uman și funcțiile sale în cadrul unei vieți trepidante, în care lupta cu timpul va fi depășită, poate, doar de lupta pentru calitate ? O viață în care prosperitatea materială poate fi adesea însoțită de „Patologia prosperității", de o viață în cadrul căreia suprasolicitarea adaptabilității umane, transformă fraternitatea „om-mediu" din trecut, într-un impact agresiv sau chiar într-un veritabil „șoc" toffllerian al viitorului ?

Alura vieții de azi, și fără îndoială a celei de mîine, oferă pe lîngă imensa binefacere a prosperității materiale și reversul acestei imagini adică a „patologiei prosperității", în cadrul căreia ateroscleroza cu manifestările sale clinice este dominantă.

„Patologia prosperității" modifică ritmul, scade intensitatea sau chiar suprimă activitatea umană, intempestiv, în decada de vîrstă în care aceasta ar trebui să fie maximă. Iată de ce, ca o dovadă de înaltă înțelepciune clar văzătoare, în „programul P.C.R. de făurire a societății socialiste multilateral dezvoltate și înaintarea României spre comunism" (ed. politică, București, 1975 p. 90), se subliniază : „Medicina românească va trebui să-și propună cunoașterea mai aprofundată a fenomenelor biologice legate de acomodarea ființei umane la viața modernă, de frînarea proceselor degenerative ale organismului uman

Scanned with OKEN Scanner

și prelungirea duratei vieții active a omului, de dezvoltare sănătoasă, echilibrată, fizică și psihică a tuturor membrilor societății, paralel cu evoluția armonioasă a relațiilor sociale noi". Vedem în aceste fraze, pe lîngă imensa grijă față de viitorul omului, statuarea politică a profilaxiei patologiei prosperității. Locul lipidologiei clinice în cadrul acestei vaste acțiuni fiind din punct de vedere teoretic bine stabilit, nutrim speranța statuării sale organizatorice. De fapt, la ceremonia constituirii Consiliului Sanitar Superior (25 octombrie 1975) tovarășul Nicolae Ceaușescu a spus : ...„trebuie să se acorde atenția principală prevenirii bolilor, apărării sănătății... medicina trebuie să acționeze în primul rînd pentru a preveni îmbolnăvirea — și trebuie să acordăm atenția centrală acestei activități, inclusiv în domeniul învățămîntului și cercetării. Trebuie să ne ocupăm în acest sens și de problemele alimentației, asigurînd o alimentație rațională care să mențină sănătatea, vigoarea, forța de muncă a poporului".

I.2. STRUCTURALIZAREA „LIPIDOLOGIEI CLINICE"

„Lipidologia clinică" presupune abordarea succesivă a :

— lipidelor alimentare ;

— biochimiei normale a lipidelor și lipoproteinelor în organismul uman ;

— patologiei lipidelor și lipoproteinelor în organismul uman.

Deoarece aspectele de patologie sînt de o mare importanță și de un volum crescut, am fost obligați să defalcăm „lipidologia clinică", din punct de vedere editorial, în două volume :

— în primul volum, ne vom ocupa de lipidele alimentare, biochimia normală a lipidelor și lipoproteinelor, și de patologia lipidelor și lipoproteinelor serice. Deoarece prima temă a fost detaliată într-un recent tratat, va fi prezentată succint ;

— în volumul al doilea, vor fi expuse aspectele legate de patologia tisulară a lipidelor și lipoproteinelor : obezitatea, lipoidozele și aterogeneza.

Permanent se va avea în vedere faptul că lipidele și lipoproteinele sînt factorii de risc vascular major. În virtutea acestui adevăr, referințele la ateroscleroză sînt prezente în ambele volume.

Cartea este scrisă „de clinicieni... pentru clinicieni". Este vorba de nutriționistul-metabolician modern, bazat pe perceptele clinice clasice și conjugat în permanență cu laboratorul care, la rîndul său, „privește" necontenit spre clinică.

Abordarea exhaustivă în lipidologia clinică este, practic, imposibilă. Între tratarea completă a ideilor și a faptelor, opțiunea noastră a fost pentru prezentarea exhaustivă a ideilor, a acelor idei de bază care au impus-o în lumea medicală.

Axați pe aceste percepte, am căutat unificarea experienței cîștigate la noi în țară în studiul aterosclerozei și lipidelor, cu cea din

Scanned with OKEN Scanner

literatura de specialitate, confruntate cu experiența noastră. Menționăm în acest sens valoarea deosebită a cercetărilor coordonate de acad. A. MOGA la Cluj-Napoca, cercetări care, începute cu mulți ani în urmă, se înscriau în începuturile cercetării aterosclerozei chiar pe plan mondial. Pe lîngă faptul că prin lucrările respective s-a semnalat pentru prima dată pericolul acestor maladii la noi în țară, ele au constituit stimulentul pentru alte cercetări autohtone. Amintim astfel, aportul adus în această problemă de colectivele conduse de : GONȚEA, IDU, STEINBACH (București), HARAGUS, VLAICU, CUCUIANU, GLIGORE (Cluj-Napoca), ȚURCANU (Timișoara), GSÖGÖR (Tg. Mureș), CREȚEANU ș.a

„Lipidologia clinică“ este fără îndoială un început pe care îl dorim împărtășit și împlinit sub forma unei continuități. Începutul unei activități al cărei unic scop este prosperitatea biologică a poporului nostru.

Scanned with OKEN Scanner

Partea I

Scanned with OKEN Scanner

I. GENERALITĂŢI

I.1 DEFINIŢIA, CLASIFICAREA ŞI NOMENCLATURA LIPIDELOR

DEFINIŢIE

Lipidele se definesc ca substanţe solubile în solvenţi organici, dar insolubile în apă. Din punct de vedere chimic ele pot conţine acizi graşi sau sînt numai derivaţi izoprenici ca sterolii sau carotenoidele (1—5).

Aceasta este o definiţie cu totul generală deoarece există numeroase excepţii de la regulă. Dacă se adaugă varietatea lipidelor şi complexitatea structurii lor, avem suficiente argumente pentru a afirma că o definiţie exactă şi completă a lipidelor este extrem de dificilă. Încercînd o definiţie în funcţie de structura şi solubilitatea lor, CARREY şi SMALL, afirmă : „Lipidele sînt un grup heterogen de compuşi organici care au în structură grupări hidrocarbonate alifatice şi/sau aromatice, cu sau fără grupări hidrosolubile". Aşa cum se va vedea, această definiţie are şi implicaţii taxonomice.

CLASIFICAREA

O clasificare a lipidelor, unanim admisă, nu există. Avînd la bază schema lui BLOOR din 1941 (citat de 2 şi 5), se propun mai multe variante de clasificări care, în general, converg spre separarea lipidelor în două mari grupe :

— lipide neutre sau simple ;
— lipide amfifilice sau complexe.

La acestea se mai adaugă un grup aparte, şi anume lipide redox (tabelul I.1).

În biologia umană, de mare importanţă sînt acizii graşi — trigliceridele, fosfolipidele, colesterolul şi lipoproteinele (detalii asupra lor sînt redate în capitolele respective).

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul I.1

A. Lipide neutre sau simple	B. Lipide amfifilice sau complexe	C. Lipide redox
1. Gliceride	1. Fosfolipide	1. Quinone
2. Ceride	2. Glicolipide	2. Cromone
3. Etolide	3. Lipoproteine și Lipopeptide	
4. Carotenoide		
5. Terpenoide		
6. Steroide		

Din punct de vedere funcțional, se deosebesc două categorii de lipide :

— lipide de rezervă, localizate electiv în țesutul adipos ;

— lipide de constituție celulară.

O interesantă sistematizare a lipidelor este prezentată de CARREY și SMALL (6, 7) în funcție de raportul fizic : lipide-apă.

— *Lipide nonpolare,* care nu conțin în structura lor grupări hidrofilice, fiind deci total insolubile în apă (de exemplu, ceridele).

— *Lipide polare,* în a căror structură există un grup hidrosolubil (alcool, ester, eter, aldehidă, carboxil, sulfat). Aceste lipide se mai numesc amfifilice, deoarece molecula lor este formată din două părți diferite ca solubilitate :

— o porțiune hidrosolubilă (hidrofilă) ;

— o porțiune hidrofobă, dar solubilă în ulei (oleofilică) fiind formată din grupări hidrocarbonate alifatice și/sau aromatice.

Lipidele polare cuprind majoritatea lipidelor de interes biologic. În funcție de balanța hidrofilică — hidrofobă, din molecula lor, acestea se împart în următoarele trei tipuri :

Tipul I, în care intră trigliceridele, digliceridele, alcooli și acizi cu lanț lung de atomi de carbon, amine și aldehide, vitaminele A, D, E și K, colesterolul etc. Așezate la suprafața apei, ele se extind pînă cînd acoperă toată suprafața, formînd astfel un film *monomolecular* stabil.

Tipul II, cuprinde fosfolipidele, cerebrozidele și monogliceridele. Sînt insolubile în apă, dar apa pătrunde în ele. Pătrunderea apei între grupările polare a acestui tip de lipide provoacă o alternare a straturilor duble cu cele simple, adică o structură de *cristale lichide lamelare.* Formarea unei faze lichid-cristaline în apă este cunoscută sub numele de „mezomorfism liotropic" (mezomorfic întrucît există o schimbare fizică de stare, și liotropic fiindcă are loc prin legarea unui solvent/apă/. Astfel de lipide se extind pe suprafața apei formînd straturi stabile.

Tipul III, cuprinde amfifile solubile. Se pot prezenta două grupe : A și B.

În tipul III A sînt cuprinse amfifilele alifatice, ca săpunurile, detergenții și lizolecitina. Formează straturi monomoleculare instabile pe suprafața apei, iar în concentrații mari produc micele.

Scanned with OKEN Scanner

În tipul III B sînt cuprinse numai lipidele care formează micele, dar fără fenomenul de mezomorfism liotropic. Este vorba de amfifilele solubile, dintre care sărurile biliare sînt cele mai reprezentative.

NOMENCLATURA LIPIDELOR

Nomenclatura lipidelor a suscitat numeroase controverse. În anul 1967, și apoi în 1968, Uniunea Internațională de Biochimie (IUB) împreună cu Comisia de nomenclatură biochimică din Uniunea Internațională de chimie pură și aplicată (IUPAC) au propus regulile nomenclaturii lipidelor (2). Scopul și adresabilitatea monografiei ne-au obligat însă la adoptarea în continuare a termenilor uzitați în tratatele clasice de biochimie.

PROPRIETĂȚI

Lipidele de tipul III (A și B) dau în soluții diluate molecule neasociate. Dacă concentrația soluției crește, se formează, în mod spontan, prin asocierea părților hidrofobe ale moleculelor, *micele* *. Părțile hidrofile rămîn la suprafața agregatelor unde se formează legături cu moleculele de apă din jurul agregatelor.

Deci, formarea micelelor are loc la o anumită concentrație a lipidei de tip III, așa-numita ***concentrație critică.***

Un alt factor hotărîtor este temperatura. La temperaturi mici înregistrăm concentrații mici. Dacă temperatura crește, concentrațiile se măresc moderat. La o anumită concentrație B intrăm pe linia BC, iar acum concentrațiile vor crește mult mai repede în funcție de temperatură. Din figură se mai vede că forma X va cuprinde molecule individuale de detergent sub formă de soluții adevărate (molecule individuale). În zona X însă se formează micele, în timp ce în zona Z, în care temperatura are mare rol, avem de-a face cu 2 faze amestecate: o fază lichidă cu compoziția asemănătoare celei date de linia AB și altă fază solidă constituită de o suspensie cristalină de detergent. Mărind și mai mult temperatura, la un anumit punct pe linia BC se observă o totală clarifiere a amestecului, datorită topirii lanțului hidrocarbonat în cristale, pătrunderii apei în jurul grupei polare și, ca efect, dispersia detergentului în micele.

Din figura I.1, se vede că BC ne dă curba relațiilor între temperatură și maximum de solubilitate a detergentului în soluția micelară; ABD dă relația între temperatură și maximum de solubilitate a detergentului sub formă de molecule individuale (soluție adevărată). Punctul B, denumit punct de forță sau C.M.T. *(critical molecular temperature)* variază după natura substanței în cauză (detergent, acid biliar etc.). Transformarea unei soluții adevărate în soluții micelare este dată de linia BD din figură, indicația C.M.C. *(critical micelar concentration)* se găsește tocmai pe această linie.

* Agregat coloidal format spontan din compuși amfifilici și apă, în funcție de concentrație și temperaturi critice.

Un detergent cu lanț lung de atomi de carbon hidrofobic va avea C.M.C. mai mare decît unul cu lanț hidrofobic scurt. În lecitină, lanțul hidrofobic fiind extins, această lipidă intră în tipul II de lipide dînd cu apa *cristale lichide* și nu micele. Dacă însă lecitina are lanț scurt de acid gras (C_3—C_4), ea va da în apă agregate micelare. Trigliceridele cu lanțuri scurte de C formează în apă, în mod spontan, particule de micele atacabile de lipaza pancreatică. Detergenții cu segmente lungi hidrofobe au C.M.T. înalt și, dimpotrivă, cei cu lanț scurt au C.M.T. mic. Detergenții și săpunurile formează micele sferice, dar în cazurile în care crește concentrația, unele substanțe apar cu micele alungite.

Unele lipide insolubile pot fi încorporate de micele producînd *micele mixte*, fenomen desemnat ca solubilizare și care are loc numai după ce s-a trecut peste C.M.C. a amestecului.

Moleculele de săruri biliare conțin o grupă hidrofobă și alte grupe hidrofile. Ele se agregă sub formă de micele peste C.M.C. și pot solubiliza unele lipide, ca cele de tipul II.

La 20°C, acizii colic (3 OH) și dezoxicolic (2 OH), produc agregate mici, în general dimeri, trimeri și tetrameri. Acizii biliari trihidroxilici se agregă într-o soluție molară de NaCl pînă la 7—9 molecule pe micelă. Glicodeoxicolatul de sodiu produce în apă dimeri, pe cînd într-o soluție 0,5 M de NaCl dă micele formate din 63 molecule. În general, micelele acizilor biliari sînt mult mai încărcate în comparație cu micelele ionice alifatice (detergenții).

Cu privire la efectul *p*H-ului s-au invederat, de asemenea, deosebiri marcante între acizii biliari tri- sau dihidroxilici. În cazul celor trihidroxilici, scăderea *p*H-ului are un efect minimal asupra agregării, însă influența este accentuată în cazul celor dihidroxilici.

În mod general, se poate afirma că moleculele de săruri biliare sînt asociate în micele primare prin acțiuni interhidrofobice. Aceste micele, în cazul acizilor dihidroxilici, se pot lega prin punți de hidrogen ale grupelor hidroxilice, dînd micele secundare.

Soluții micelare mixte. După cum s-a văzut, lipidele nepolare, precum și cele polare de tipurile I și II pot să fie solubilizate de soluțiile lipidelor de tip III (solubilizare micelară). Ultimele soluții mai pot fi denumite soluții micelare mixte.

Fenomenul de solubilizare micelară indică faptul că astfel de soluții conțin în micelă minimum o moleculă de solubilizat, adică lipidă nepolară sau lipidă tip I sau II.

Pentru cunoașterea cantitativă a fenomenului sînt necesari mai mulți parametri: stabilirea rației C.M.C. a soluției saturate, rația molară a solubilizatului cu lipidă tip III la saturarea soluției micelare cu solubilizat, greutatea micelară a micelei saturate și evidența că micelele sînt de aceeași mărime (monodisperse), precum și stabilirea solubilizării solubilizatului în apă. Se poate astfel deduce numărul de molecule detergente și a celor solubilizate în fiecare micelă.

Scanned with OKEN Scanner

Micelele mixte sînt formate, după cum s-a arătat, dintr-un detergent de lipidă polară tip III B și unul din componenții următori : A. lipide nepolare, B. amfifile neexpansive, C. amfifile expansive, D. specii de tipul III de amfifile.

O stare micelară este necesară în absorbția grăsimilor în tractul digestiv, în care sărurile biliare ajută la solubilizarea unei proporții mari de lipide insolubile sub formă micelară mixtă (în lumenul intestinal). În cazurile clinice de obstrucție biliară, absorbția poate avea loc chiar la un *p*H de 6—6,5 prin formarea de lizolecitină. Această lipidă amfifilă încorporează alte produse lipolitice (monogliceride și acizi grași) în micelele formate.

Scanned with OKEN Scanner

II. LIPIDELE ALIMENTARE

II.1. DATE GENERALE

Grăsimile, ca grupă de alimente, sînt produse eterogene alcătuite dintr-un amestec complex de : gliceride, în cea mai mare proporţie, alături de steroli, fosfolipide, substanţe proteice şi mucilaginoase, vitamine şi pigmenţi (clorofilă, caroten, xantofilă etc.).

Gliceridele, principalul constituent al grăsimilor sînt, din punct de vedere chimic, esteri ai glicerolului cu una, două sau trei molecule de acizi graşi. În funcţie de numărul acizilor graşi, care au esterificat gruparea hidroxil a glicerolului, vorbim de mono-, di- sau trigliceride. Cînd esterificarea a implicat un singur acid gras este vorba de gliceride omogene (de exemplu, tristearina), iar cînd aceasta a legat acizi graşi diferiţi vorbim despre gliceride mixte (de exemplu, palmitodistearina). În ceea ce priveşte natura lor, acizii graşi, care esterifică glicerolul, pot fi saturaţi sau nesaturaţi. Aceasta are o deosebită importanţă întrucît determină deosebiri între diversele tipuri de grăsimi, atît din punct de vedere fizico-chimic, cît şi în ceea ce priveşte valoarea lor nutritivă.

La animale, grăsimea se depune îndeosebi în ţesutul subcutanat sau în jurul unor organe interne. La unele specii, intră chiar în constituţia ţesutului muscular, conferindu-i o frăgezime deosebită (de exemplu, muşchiul de porc).

La organismele vegetale, acumularea grăsimii se face cu predilecţie în embrion, fructe şi seminţe, unde se găsesc sub forma unor emulsii cu apa şi proteinele.

Din punct de vedere nutriţional, grăsimile alimentare prezintă cîteva caractere comune (FERON, citat de 3) :

— au punctul de topire sub 40°C ;

— au un coeficient de utilizare digestivă în jur de 100% (96—100%) ;

— sînt constituite din gliceridele acizilor graşi din seria alifatică, cel mai frecvent cu un număr pereche de atomi de carbon, foarte rar ramificaţi ;

— aduc organismului în jur de 9 calorii/gram, dacă utilizarea lor este completă, reprezentînd astfel un substrat energetic deosebit de valoros.

În tubul digestiv produc o întîrziere a evacuării gastrice, prin stimularea producerii de enterogastron, cu acțiune inhibitoare asupra motilității gastrice.

Dintre caracterele care deosebesc diferitele grăsimi alimentare între ele, amintim :

— compoziția lor în acizi graşi ;

— lungimea lanțului atomilor de carbon ;

— gradul de saturare, sau nesaturare, a acizilor componenți ;

— constituenții nesaponificabili, legați mai ales de originea grăsimii (de exemplu, colesterolul — pentru grăsimile animale, sitosterolul — pentru cele vegetale) ;

— starea lor fizică la temperatura obișnuită : solidă, păstoasă sau lichidă ;

— prezentarea lor pentru consumator, în sensul comodității de utilizare : lichidă (uleiurile vegetale de consum curent) ; solidă (grăsimile animale şi vegetale) ; emulsii cu plasticitate diferită (unt, margarină, maioneză, creme etc.).

Clasificarea grăsimilor alimentare se poate face după diverse criterii. Ne vom opri la cel utilizat mai frecvent.

În funcție de proveniența lor, grăsimile se pot clasifica în : animale, vegetale şi mixte, fiecare categorie cuprinzînd tipuri lichide sau solide la temperatura obișnuită.

Grăsimile animale sînt :

— lichide — de la animale terestre : uleiul de copite ;
— de la animalele acvatice : uleiul de peşte ;

— solide (numai de la animale terestre) sînt :
— seul (de vită, de ovine) ;
— grăsimea de porc (slănina, untura) ;
— untul ;
— grăsimea de pasăre.

Grăsimile vegetale pot fi :

— lichide (uleiuri) de măsline, germeni de porumb, floarea-soarelui, dovleac etc. ;

— solide — untul de cacao ;

— uleiul de palmier.

Grăsimile de origine mixtă : margarinele.

În continuare, vom prezenta grăsimile mai frecvent utilizate în alimentație.

II. 2. LIPIDE ANIMALE

UNTUL

Untul reprezintă grăsimea laptelui unor specii de mamifere (de obicei a celui de vacă), obținut prin baterea (sau centrifugarea) smîntînii, malaxare și spălare (pentru îndepărtarea componentelor nelipidice), astfel încît în 100 g produs să rămînă maximum 18 g substanțe nelipidice, din care apa să reprezinte maximum 16 g.

Lipidele din unt sînt un amestec de trigliceride reprezentînd esteri ai glicerolului cu acizi grași cu moleculă mică, saturați, volatili, ca : acizii butiric, caprilic, caproic, și cu acizi grași cu moleculă mai mare, nevolatili, ca : acizii stearic, palmitic, miristic, lauric și oleic.

Compoziția medie a unui kilogram de unt este următoarea (TOMA, citat de 3) :

— materii grase	820—845 g
— extract sec negras (cazeină, lactoză, săruri minerale)	5— 20 g
— apă	150—160 g

Fabricarea untului implică o serie de etape importante.

— Într-o primă etapă se efectuează smîntînirea și normalizarea laptelui (astfel încît să conțină 35% grăsime). Smîntîna reprezintă o formă a laptelui, concentrată în grăsime, în care se realizează apropierea particulelor de grăsime.

— Urmează dezacidifierea în așa fel, încît *p*H-ul să se afle în jur de 6,6—6,7 (cu scopul de a preveni coagularea sa în timpul pasteurizării). Aceasta se realizează prin spălarea smîntînii, pentru îndepărtarea substanțelor acide, sau prin tratarea cu substanțe alcaline.

— Procesul tehnologic implică, de asemenea, pasteurizarea smîntînii, pentru distrugerea germenilor patogeni care ar putea duce la alterarea produsului. Cu această ocazie se inactivează și lipazele (în urma încălzirii la 92—95°C timp de 30 secunde) care ar putea altera produsul în cursul depozitării.

— După o răcire bruscă, avînd drept scop prevenirea apariției modificărilor organoleptice și a reinfectării microbiene a produsului, urmează maturarea. Aceasta poate fi fizică — răcire (în cursul căreia în globulele de grăsime începe formarea cristalelor, în cercuri concentrice, de la exterior spre interior, cu reducerea volumului globulelor și a rezistenței stratului lor exterior), și biochimică. Maturarea biochimică se obține prin însămînțări cu ajutorul culturilor selecționate acidifiante *(Streptococcus cremoris)* și aromatizante *(Streptococcus diacetylactis)*. Aceasta are drept scop acidifierea smîntînii, formarea aromelor specifice, inhibarea dezvoltării florei dăunătoare, uniformizarea calităților untului (gust și aromă). Desfășurarea sa are loc în două etape : — matu-

rarea propriu-zisă, în care se dezvoltă intens bacteriile lactice şi creşte aciditatea ; — maturarea de aromatizare, în care acidifierea este mai redusă, fiind predominantă formarea substanţelor de aromă şi gust (TOMA, citat de 3).

— După maturare, urmează baterea smîntînii, prin care se realizează o apropiere foarte avansată între globulele de grăsime cu distrugerea membranei lipoproteice a acestora şi unirea lor, cu formarea bobului de unt. Urmează spălarea acestuia cu apă rece, pentru îndepărtarea zarei (conţine proteine, lactoză, acid lactic), care reprezintă un mediu de cultură pentru microorganismele ce produc alterarea produsului. În final se procedează la malaxare, în cursul căreia se obţine unirea boabelor de unt într-o masă omogenă, îndepărtarea excesului de apă şi uniformizarea repartiţiei diverselor componente.

Pentru creşterea conservabilităţii se poate adăuga sare. Tot cu acelaşi scop se efectuează topirea untului, în care caz conţinutul în grăsime creşte la 98—99%, iar cel de apă scade foarte mult (1—2%).

Sortimentele de unt mai frecvente la noi sînt untul superior, untul de masă şi untul topit.

Din punct de vedere nutritiv, untul are avantajul furnizării lipidelor într-o formă emulsionată, cu digestibilitate crescută. Alături de componentele lipidice cu valoare calorică mare, untul este important şi pentru aportul de vitamine liposolubile : A, D, E. Pentru ca valoarea lui nutritivă să se menţină crescută, se recomandă să fie adăugat proaspăt, la sfîrşitul pregătirii culinare a alimentelor sau la servire, în farfurie.

UNTURA

Untura (grăsime de porc) se obţine prin topirea ţesutului adipos (slănina) subcutanat sau a celui din jurul diferitelor organe. Acesta, după ce este tăiat în bucăţi mici, se topeşte la o temperatură de 80—85°C, la care are loc separarea grăsimii de componentele nelipidice ale ţesutului adipos (jumările). Untura conţine 0,25% acizi graşi liberi, 0,2% substanţe nesaponificate de 26—32° ; conţinutul de lipide este de 99,5—100% (PETRESCU, citat de 3).

Din punct de vedere nutritiv, untura de porc are o digestibilitate mai redusă, comparativ cu celelalte grăsimi. Deşi are o valoare calorică ridicată, datorită conţinutului său mare în acizi graşi saturaţi — al căror rol în producerea unor tulburări nutriţionale este din ce în ce mai bine conturat astăzi, — indicaţiile sale pentru alimentaţia raţională a omului sînt restrînse.

SEUL

Seul (grăsimea de vacă şi de oaie) se obţine prin topirea grăsimii (ţesutul adipos) din jurul diferitelor organe (intestine, rinichi, inimă etc.). Seul de vită netopit conţine : circa 80—95% lipide, 1,1—1,2% pro-

Scanned with OKEN Scanner

teine, 9—10% apă. În ceea ce privește repartiția diferitelor gliceride, MANTA (citat de 3) prezintă următoarele valori :

— Gliceride saturate : (17,4%)
  — tripalmitina 3%
  — dipalmitostearina 8%
  — palmitodistearina 6%
  — tristearina 1%
— Monooleogliceride : (49%)
  — oleodipalmitina 15%
  — oleopalmitostearina 32%
  — oleodistearina 2%
— Dioleogliceride : (33,6%)
  — palmitodioleina 23%
  — stearodioleina 11%
  — trioleina 1%

Seul topit are un conținut mai redus în apă (0,7%) și substanțe nelipidice, fiind reprezentat aproape numai prin lipide.

Datorită conținutului mare de acizi grași saturați, care-i dau o consistență mai crescută, seul are digestibilitatea redusă.

GRĂSIMEA DE PASĂRE

Grăsimea de pasăre (rață, gîscă, curcan, găină) are culoarea galbenă caracteristică. Comparativ cu grăsimea mamiferelor, aceasta are un conținut mai scăzut în acizi grași saturați. Datorită prezenței acizilor grași nesaturați (oleic, linoleic ș.a.), în compoziția ei, are o valoare nutritivă și digestibilitate mai mare decît alte grăsimi animale.

GRĂSIMEA DE PEȘTE

Grăsimea de pește se obține prin topirea grăsimii brute, direct sau cu ajutorul vaporilor de apă.

O importanță deosebită o au uleiurile medicinale, extrase din ficatul unor specii de pește (de exemplu, *Gadus morrhus),* prin conținutul lor ridicat în vitamine liposolubile (A și D). Aceste grăsimi, care, de obicei sînt lichide la temperatura obișnuită, se caracterizează, de asemenea, printr-un conținut predominant în acizi grași nesaturați (oleic, linoleic, linolenic etc.), care le conferă o digestibilitate bună și o valoare nutritivă deosebită.

II. 3. GRĂSIMILE VEGETALE

Grăsimile vegetale se obțin prin extragerea lor din diversele părți ale plantei, unde acestea se depozitează mai frecvent, și anume : embrion (uleiul de germeni de porumb), fructe (uleiul de măsline, nuca de cocos) sau semințe (uleiul de floarea-soarelui, de soia, de dovleac, de susan etc.) care sînt cunoscute sub numele de semințe oleaginoase.

Scanned with OKEN Scanner

Compoziţia chimică a seminţelor oleaginoase variază în funcţie de o serie de factori, ca : specia plantei, solul unde a fost cultivată, climă etc. Astfel, spre exemplu, se citează faptul că uleiurile provenite din seminţele plantelor cultivate la nord sînt mai bogate în acizi graşi nesaturaţi decît cele provenite de la plante cultivate la sud. De asemenea, seminţele plantelor cultivate la poalele munţilor au un conţinut mai scăzut în acizi nesaturaţi, comparativ cu cele cultivate mai sus.

Procesul tehnologic de fabricare a uleiurilor vegetale implică, pe de o parte, presarea sau extracţia (sau ambele), şi pe de altă parte. rafinarea.

În cazul folosirii metodei de obţinere prin presare, seminţele trec printr-o serie de etape pregătitoare, ca : eliminarea impurităţilor, cojirea, măcinarea, prăjirea (încălzirea seminţelor umectate) şi apoi presarea. Prăjirea are ca scop obţinerea coagulării proteinelor, cu separarea lipidelor într-o formă mai pură, cu stabilitate mai mare la păstrare.

Metoda de extracţie se bazează pe principiul difuziunii dizolvantului în grăsimea din celulele vegetale, pînă la epuizarea sa completă. Solventul este mai îndepărtat prin distilare. De obicei se aplică ambele metode (presare urmată de extracţie cu solvenţi).

Uleiul astfel obţinut se află în stare brută, conţinînd, pe lîngă grăsime, o serie de alte substanţe, ca : fosfolipide, steride, acizi graşi liberi, protide, substanţe mucilaginoase, pigmenţi, astfel încît necesită, în continuare, un proces de rafinare în cursul căruia se efectuează demucilaginarea, neutralizarea acizilor graşi liberi, prin saponificare, şi îndepărtarea lor ulterioară, decolorarea (cu cărbune absorbant sau pămînturi decolorante), dezodorizarea prin intermediul vaporilor de apă supraîncălziţi la 150—180°C (FERON, citat de 3). Produsul finit astfel obţinut prezintă proprietăţi organoleptice superioare, conservabilitate mai bună şi conţinut lipidic ridicat (99,99,7%).

Prin aportul lor energetic mare, prin furnizarea unor factori nutritivi, esenţiali pentru organism (acizi graşi polinesaturaţi), ca şi prin digestibilitatea lor ridicată, uleiurile vegetale ocupă un loc important în alimentaţia omului, proporţia lor ajungînd la 1/2—2/3 din aportul lipidic zilnic.

Întrucît prelucrarea lor industrială implică procese laborioase, produsul finit este lipsit total de vitamine sau le conţine în cantităţi foarte reduse.

II. 4. MARGARINELE

Margarinele sînt grăsimi mixte din punctul de vedere al originii, obţinute pe cale sintetică din amestecuri de grăsimi animale de calitate superioară (unt) şi uleiuri vegetale, la care se adaugă lapte, gălbenuş, sare, caroten şi diverse arome. Ca aspect, gust şi miros se aseamănă cu untul.

Compoziţia chimică medie a margarinei este următoarea :

— apă 9,07%
— grăsime 87,59%
— substanţe proteice 0,5%
— lactoză 0,4%
— cenuşă 1,35%

Valoarea calorică este de circa 750 calorii la 100 g. Coeficientul de utilizare digestivă este de 94—96%.

În funcţie de materia primă, folosită la fabricarea ei, se deosebesc (MOŢOC, citat de 3) :

— margarina cremă, obţinută prin emulsionarea grăsimilor cu smîntînă sau cu lapte, în care se adaugă şi unt de vacă ;

— margarina de lapte, obţinută prin emulsionarea grăsimilor cu lapte ;

— margarina de apă, obţinută prin emulsionarea grăsimilor cu apă.

Fabricarea margarinei cuprinde o serie de etape (FERON, citat de 3) :

— prepararea fazei apoase (apă, lapte fermentat) ;
— prepararea fazei grase (dozarea amestecului de uleiuri) ;
— emulsifierea ;
— solidificarea emulsiei ;
— malaxarea ;
— condiţionarea.

Pentru mărirea valorii nutritive se încorporează în margarină diverse vitamine (A, D etc.). Reţetele de preparare variază în diversele ţări, în funcţie de sortiment. În ţara noastră, mixtura din care se fabrică margarina este alcătuită din următoarele componente (7) : ulei de floarea-soarelui parţial hidrogenat (75—80%), ulei de floarea-soarelui natural (20—25%), emulgator (monogliceride + lecitină) (0,25—0,1%), beta-caroten (400 mg%), retinol (2 500 U.I.%), colecalciferon (250 U.I.%), zahăr (0,2—0,3 g%), amidon (0,2—0,3 g%) şi clorură de sadiu (0,2—0,3 g%).

II. 5. GRĂSIMILE HIDROGENATE

Grăsimile hidrogenate sînt uleiuri solidificate obţinute din uleiurile vegetale sau animale prin adiţionarea hidrogenului la dublele legături ale acizilor graşi nesaturaţi din componenţa lor. Procesul tehnologic se efectuează la temperatură ridicată, în prezenţa unor catalizatori (nichel). Are loc o modificare a proprietăţilor fizico-chimice ale grăsimilor, concomitent cu apariţia unor izomeri de poziţie (de obicei în proporţie redusă). Spre exemplu, acidul oleic (forma cis clasică) se transformă în izomerul său transacidul elaidinic. Uneori această transformare deposedează acidul gras nesaturat de activitatea lui de acid gras esenţial.

Scanned with OKEN Scanner

Hidrogenarea grăsimilor are două obiective importante şi anume :
— obţinerea unor grăsimi solide sau cu o anumită plasticitate (pentru a fi uşor manipulate) ;
— asigurarea unei conservabilităţi mai mari prin reducerea gradului de nesaturare excesiv (de exemplu, uleiul de peşte şi de balenă).

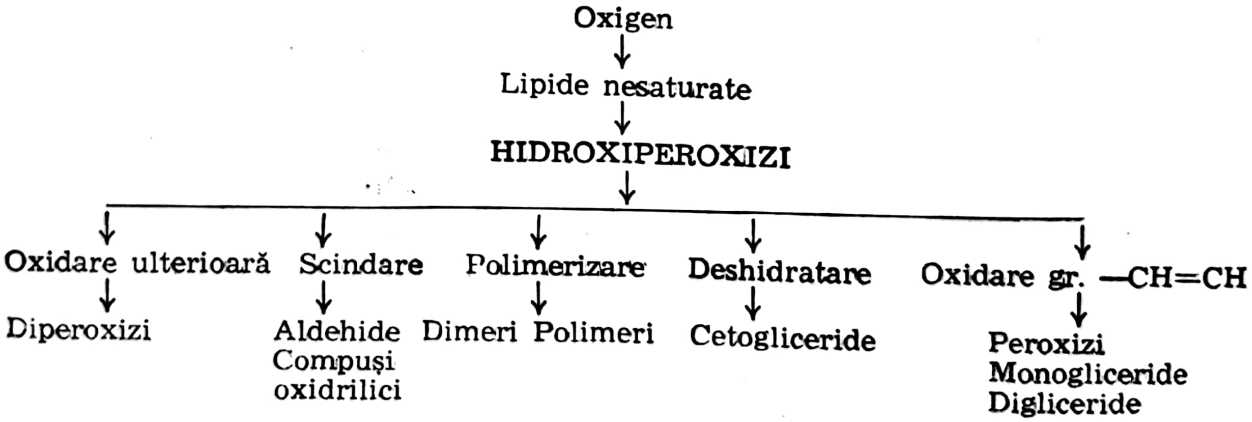
II. 6. TRANSFORMĂRI BIOCHIMICE ALE GRĂSIMILOR

Grăsimile pot suferi o serie de procese chimice determinate de acţiunea unor enzime (lipooxidaza, lipaza) existenţa în ţesuturile din care sînt extrase, a unor microorganisme sau agenţi din mediu (oxigen, lumină, căldură etc.). Dintre modificările mai importante amintim : hidroliza, oxidarea, rîncezirea.

Hidroliza constă în transformarea grăsimii în componentele de bază : glicerolul şi acizii graşi. Fenomenul are loc sub acţiunea lipazelor (enzime hidrolitice) şi se mai numeşte saponificare. Are un rol important în procesul de digestie a grăsimilor.

Oxidarea interesează grăsimile care au în compoziţia lor acizi graşi nesaturaţi şi are loc în prezenţa oxigenului. Se produc transformări complexe, care duc la o serie de compuşi, ca : bioxid de carbon, apă, acid lactic, acid formic, aldehide etc. Concomitent se modifică proprietăţile fizico-chimice ale grăsimilor : cresc densitatea şi vîscozitatea, scade indicele de iod etc.

Prezentăm în continuare o schemă de oxidare a grăsimilor după MOŢOC (citat de 3) :



Rîncezirea reprezintă un proces de autooxidare a grăsimilor, care se desfăşoară după schema reacţiilor în lanţ, produs sub acţiunea unor factori diverşi : fizici (lumină, căldură, radiaţii), chimici (oxigen, metale grele) sau enzimatici (lipaze, lipooxidaze). Se produce modificarea proprietăţilor organoleptice ale grăsimii, cu apariţia gustului caracteristic de „rînced", care o face necomestibilă.

Scanned with OKEN Scanner

În prezent se admite teoria lui FARMER (citat de 3), care consideră că în procesul de autooxidare a grăsimilor se formează hidroxiperoxizi prin fixarea oxigenului la carbonul vecin dublei legături. Peroxizii formaţi sînt instabili ; la nivelul lor, acizii se rup, formîndu-se aldehide sau acizi cu număr mic de carboni. Spre exemplu, din acidul oleic se formează acidul azelaic şi aldehida nonilică, care dau gustul caracteristic grăsimii râncede (7).

În funcţie de natura transformărilor, se descriu următoarele : râncezirea hidrolitică (în cursul căreia creşte aciditatea liberă a grăsimii) (indicele Hehner) ; râncezirea cetonică (în cursul căreia, sub acţiunea microorganismelor, apar produşi de tipul cetonelor, bioxidului de carbon, acizi graşi, cu moleculă mică ; apariţia unor compuşi de tipul metilcetonelor imprimă gustul neplăcut) ; râncezirea aldehidică, sub influenţa oxigenului din aer, în cursul căreia se formează produşi de oxidare, polimerizare şi condensare dintre care amintim aldehidele, cetonele, acizii, peroxizii, gaze (CO, CO_2). Râncezirea aldehidică se urmăreşte prin determinarea indicelui de peroxil (MOŢOC citat de 3).

Substanţele antioxidante (vitamine, galatul de propil etc.), întîrziind procesul de râncezire, sînt folosite la conservarea unor grăsimi. Întrucît lumina şi oxigenul grăbesc procesul de râncezire, grăsimile vor fi păstrate în încăperi întunecoase, răcoroase, închise.

II.7. LIPIDELE DIN OU

Lipidele din ou sînt concentrate mai ales în gălbenuş, reprezentînd aproximativ 70% din substanţa uscată a acestuia (BANU, citat de 3). Ele sînt formate din 62,3% gliceride, 32,6% fosfolipide (lecitine, cefaline etc.) şi 4,9% steroli (OLIVE, citat de 3). Proporţia lipidelor în ou este foarte constantă din punct de vedere cantitativ, dar conţinutul lor în acizi graşi saturaţi şi nesaturaţi variază foarte mult, în funcţie de alimentaţia păsărilor. LIBERMANN (citat de 3), constată că gălbenuşul se formează în straturi succesive, fiecare strat reprezentînd depunerea de material dintr-o singură zi, inclusiv a grăsimilor din hrană.

Lipidele oului au un coeficient de utilizare digestivă foarte mare, deoarece se găsesc sub formă emulsionată (ca şi cele din lapte). Fosfolipidele au un rol important în creştere. Lecitina din ou acţionează ca un factor preventiv al steatozei hepatice produsă de colesterol, astfel încît putem afirma că oul înglobează în acelaşi timp colesterolul şi antidotul său (OLIVE, citat de 3). În tabelul II.1. este redată compoziţia oului în lipide.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul II.1

Acizii graşi din compoziţia trigliceridelor şi fosfolipidelor oului (după Banu, citat de 3)

Acizi graşi	Gliceride (%)	Fosfolipide (%)
Saturaţi:		
Miristic	0,7	nemenţionat
Palmitic	25,2	31,8
Stearic	7,5	4,1
Nesaturaţi		
Palmitoleic	3,3	nemenţionat
Oleic	52,4	42,6
Linoleic	8,6	8,2
Glupanodonic	2,3	13,3

II.8. LIPIDELE DIN LAPTE

Lipidele din lapte sînt reprezentate de : a) trigliceride, care alcătuiesc 98% din totalul lipidelor ; b) fosfolipide care se găsesc în cantitate redusă (0,05—0,075%), dar care au un rol important în formarea globulelor de grăsime, făcînd legătura între faza grasă şi cea apoasă a laptelui ; c) steride, reprezentate mai ales de colesterol şi lecitină (TOMA, citat de 3). Diverse feluri de lipide sînt grupate în lapte în trei faze distincte : globulele de grăsime, membrana care înconjoară aceste globule şi plasma laptelui — fiind combinate cu proteinele (COSTIN, citat de 3).

Globulele de grăsime au o membrană protectoare formată la interior din fosfolipide şi proteine, iar la exterior din componentele plasmatice ale laptelui, care împiedică contopirea lor. Avînd greutatea specifică mai mică, ele se vor ridica la suprafaţă, formînd un strat de grăsime variabilă în funcţie de cantitatea de lipide din lapte, numit smîntînă sau cremă. Acest fenomen de separare spontană (naturală) are loc prin lăsarea laptelui în repaus. În cursul preparării untului, contopirea globulelor de grăsime se face printr-un proces mecanic de batere, în cursul căruia se obţine distrugerea membranei protectoare a globulelor de grăsime.

Trigliceridele laptelui au în componenţa lor o mare proporţie de acizi graşi (circa 60 au fost identificaţi pînă în prezent), dintre care 2/3 sînt reprezentaţi de cei saturaţi şi numai 1/3 de cei nesaturaţi. Caracteristică pentru grăsimea laptelui este prezenţa, în proporţie ridicată, a acizilor graşi volatili de tipul acidului butiric (tabelul II.2. — după TOMA, citat de 3).

Între substanţele nesaponificabile amintim sterolii, carotenoidele sub toate formele (a, beta şi vitamina A), care dau culoarea galbenă caracteristică laptelui (variabilă după sezon) şi tocoferolii, cu efect protector antioxidant al grăsimii.

Tabelul II.2

Principalii acizi graşi din grăsimea laptelui (după Toma, citat de 3).

Acidul	Proporţia acizilor graşi din grăsime	
Butiric	3,5	
Capronic	2,0	acizi graşi inferiori volatili
Caprilic	1,0	
Caprinic	2,0	
Lauric	2,5	
Miristic	10,0	acizi graşi superiori nevolatili
Palmitic	25,0	
Stearic	10,5	
Oleic	33,0	

Conţinutul laptelui în lipide, variază în funcţie de provenienţa lui : 3,5% (vacă), 6,8% (oaie), 8,2% (bivoliţă), 4,1% (capră).

II. 9. LIPIDELE DIN CARNE

Lipidele din ţesutul muscular variază în funcţie de specia, vîrsta, starea de nutriţie a animalului, cît şi de regiunea anatomică de provenienţă (tabelul II.3).

Tabelul II.3.

Conţinutul în diferite tipuri de lipide al ţesutului muscular provenit de la diverse specii de animale (% faţă de substanţa uscată), (după Deuel—citat 3)

Specia de provenienţă	Fosfolipide (F)	Colesterol (c)	Raport F/C	Total lipide esenţiale	Lipide neutre	Total lipide
Bovine adulte	3,08	0,22	14	4,24	9,97	14,21
Porc	3,06	0,20	15	4,43	17,97	22,40
Viţel	5,04	0,32	16	5,98	5,86	11,84
Oaie	4,74	0,31	15	7,00	4,19	11,19
Păsări (muşchii roşii)	4,36	0,40	11	6,02	6,65	12,67
Păsări (muşchii albi)	2,72	0,25	11	4,96	1,99	6,95
Somon	4,39	0,19	23	8,54	9,76	18,30
Cod	4,28	0,35	12	7,27	2,20	9,47
Crustacee	3,89	0,77	5	5,88	2,24	8,12

Lipidele din fibrele musculare au rol energetic şi plastic (fosfolipidele intră în componenţa unor structuri ale fibrei : mitocondrii, microzomi, nuclei) sau sînt legate de unele proteine ale sarcoplasmei şi de miofibrile. În privinţa conţinutului în lipide se consideră că muşchiul cardiac are cel mai ridicat procent de fosfolipide, muşchiul

neted are cel mai mare conţinut de colesterol, iar muşchiul striat cel mai scăzut. Grăsimile ţesutului muscular provenit de la bovine, ovine, cabaline, porcine, conţin într-o proporţie redusă acizi graşi nesaturaţi. Grăsimile provenite de la peşte se caracterizează prin predominanţa acestora faţă de cei saturaţi.

II.10. LIPIDELE ŞI ALIMENTAŢIA PARENTERALĂ

Lipidele, sursă bogată de energie, sînt folosite astăzi din ce în ce mai frecvent în perfuzii intravenoase, sub formă de emulsii. Tentativa de a fi folosite datează de multă vreme. Primul care a încercat-o a fost WILLIAM COURTEN, sub formă de injecţii i.v. de ulei cald, declanşînd bineînţeles o embolie grasă mortală. LEUBI, în anul 1885, introduce ulei subcutan, iar SCHOTT, în anul 1918, introduce lipide într-o alimentaţie parenterală completă.

După al doilea război mondial, problema este reluată de americani (STARE şi GEYER), japonezi (NISAKA şi NISHINO) şi germani (SCHON). Suedezii (EDGREN şi colab.) prepară o emulsie pe bază de ulei de soia numită *Intralipidum Vitrum*. Sovieticii prepară o emulsie de fosfolipide, iar LE VEEN, o soluţie de grăsimi sintetice solubile în apă.

Toate soluţiile lipidice perfuzabile sînt emulsii lipidice în fază apoasă. Se utilizează de obicei uleiuri vegetale sau grăsimi animale rafinate purificate. Cel mai frecvent sînt folosite uleiuri din seminţe de bumbac, susan, soia, rapiţă, in, măsline, nuci de cocos. Aceste uleiuri sînt emulsionate, omogenizate şi stabilizate. EDGREN a fabricat mai multe tipuri de emulsii, denumite după agenţi emulsionabili. Una dintre aceste emulsii, denumită „U", foarte bine tolerată, cuprinde 10% ulei de soia şi este stabilizată cu 1,2% fosfatide de ou şi 2,5% glicerină în soluţie apoasă. Autorii suedezi consideră că valoarea nutritivă a emulsiilor de grăsimi depinde nu numai de conţinutul lor în trigliceride, ci şi de agentul emulsionant folosit.

Compoziţia emulsiilor de lipide cel mai frecvent folosite este următoarea (LARCAN, citat de 3):

1. INTRALIPIDUM VITRUM

a. Emulsie 10% (în flacoane de 100 ml, 500 ml, 1 000 ml); valoarea calorică 1 100 calorii/litru

— ulei de soia (fără fosfatide)	100 g
— lecitine din gălbenuş	12 g
— glicerină	25 g
— apă distilată q.s.p.	1 000 ml

b. Emulsie 20% (în fiecare flacon de 500 ml); valoarea calorică 2 000 calorii/litru

— ulei de soia (fără fosfatide)	200 g
— lecitină din gălbenuş	12 g
— glicerină	25 g
— apă distilată q.s.p.	1 000 ml

2. LIPOFUNDIN (BRAUN-MELSUNGEN) SAU LIPIPHYSAN (EGIC)

a. Emulsie 10% ; valoarea calorică în jur de 1 200 calorii/litru

— apă distilată q.s.p.	1 000 ml
— ulei de semințe de bumbac	100 g
— fosfolipide de soia hidrogenate	15 g
— sorbitol	50 g

b. Emulsie 15% ; valoarea calorică 1 650 calorii/litru

— ulei de semințe de bumbac	150 g
— fosfatide de soia hidrogenate	15 g
— sorbitol	50 g
— apă distilată q.s.p.	1 000 ml

3. LIPOMUL

Emulsie 15% (în flacoane de 250 ml, 500 ml, 600 ml)

— ulei de semințe de bumbac	15 g
— dextroză anhidră	40 g
— lecitină de soia	12 g
— oxietilen-oxipropilen polimer (Pluronic F 68)	
— apă distilată q.s.p.	1 000 ml

Există alte multe preparate similare : Infonutrol, cu compoziție asemănătoare cu a Lipom-ului (japonez) ; unele neintrate încă în faza industrială (emulsii anhidre concentrate, sinteze de trigliceride cu ajutorul acizilor grași etc.).

După STORER, condițiile ce trebuie să le îndeplinească aceste preparate sînt :

— fizico-chimice : mărimea particulelor grase să nu depășească 2 μ, fiind în general prinse între 0,4 și 1,5 μ ; să fie fin dispersate, iar stabilitatea chimică să nu sufere alterări. Să fie sterile ;

— biologice : să nu dea intoleranțe, să nu prezinte proprietăți patogenice, să fie izotonice, să nu fie toxice ;

— practice : stabilitatea fizico-chimică să se mențină pe tot timpul stocajului, chiar la temperaturi diferite. Să nu fie scumpe.

Efectele perfuziilor lipidice pot fi studiate din punct de vedere farmacologic, fiziologic și al acțiunilor toxice (LARCAN).

a) *Efectele farmacologice*. Trigliceridele de greutate moleculară mică au o acțiune difazică la nivelul inimii : mai întîi provoacă hipotensiune și bradicardie, iar ulterior, hipertensiune și tahicardie ; acest efect este abolit de atropină. Fosfatidele de ou sînt greu suportate. Uleiurile vegetale sînt mai puțin toxice. Intralipidul nu provoacă nici un efect tensional, nici chiar la un ritm de perfuzare de 1 ml/kilocorp/min. (EDGREN).

Se observă și o scădere a consumului de oxigen al miocardului, motiv pentru care perfuzia cu lipide este contraindicată la bolnavii coronarieni.

Sub perfuzia cu lipide se poate observa și o fragmentare a circulației capilare periferice, datorită granulelor de grăsime ; fenomenul este în legătură cu numărul de chilomicroni (CHAZAN). Hematiile iau o formă stelată, iar granulocitele își măresc adezivitatea la peretele capilar. Circulația periferică se încetinește.

Scanned with OKEN Scanner

b) *Efecte fiziologice.* Constantele biologice suferă anumite modificări. După o perfuzie lipidică, albuminele plasmatice scad pînă la 35—40%, datorită formării de complexe lipoproteice. Beta-globulinele cresc, iar alfa-globulinele scad datorită reducerii alfa-lipoproteinei și creșterii chilomicronilor și beta-lipoproteinelor. Vîscozitatea sanguină nu se modifică, V.S.H. scade. Glicemia nu se modifică. Echilibrul acido-bazic nu este tulburat (LARCAN). Coagularea nu suferă nici un fel de modificare.

Nu există nici o diferență între comportamentul trigliceridelor injectate și între cel al chilomicronilor marcați (WOLFF). Viteza de epurație, care depinde de numeroși factori, este în funcție și de cantitatea de lipide injectate (scade cînd lipidele injectate cresc). Epurația are loc la nivelul ficatului sau al sistemului reticulohistiocitar, printr-un mecanism de hidroliză enzimatică (sub influența lipoprotein-lipazei (KORN). Epurația este în raport cu starea de nutriție generală și cu circumstanțele agresiunii.

Grăsimile exogene introduse parenteral se comportă ca și chilomicronii, soarta lor depinde de starea nutrițională a organismului. Lipidele favorizează anabolismul proteic cu condiția ca ele să nu depășească 60% din aportul caloric global. Administrarea lor poate preveni mobilizarea de AGL datorită agresiunii. SATOMURA arată că administrarea lor intravenoasă este chiar superioară aportului *per os*, în menținerea unui echilibru nutrițional și a unei repartiții echilibrate a acizilor grași la nivelul țesuturilor.

Studii foarte recente (10) demonstrează că în timpul alimentației parenterale prin perfuzii cu Intralipid, se produce creșterea AGL, corpilor cetonici, scăderea insulinemiei și pozitivarea balanței proteice. Observația aduce deci argumente suplimentare la sublinierea importanței lipidelor exogene administrate intravenos.

c) *Efectele toxice* pot surveni în cazul perfuziilor prelungite sau abundente. Poate să apară anemie datorită formării de lizolecitine. Anemia este de tip hemolitic. Cel mai greu tolerați par a fi acizii grași cu lanț scurt.

Constantele biologice alterate sînt cele hepatice (BSP, testele de floculare), lipidele circulante sînt modificate. Anatomic, se găsește steatoza hepatică, splenică sau chiar pulmonară (SAXE).

De asemenea, după perfuzii îndelungate pot să apară pigmentări viscerale de natură cromolipoidică, depunerea făcîndu-se în special în sistemul reticulohistiocitar.

Pentru a preveni toate aceste tulburări este necesar să se respecte următoarele indicații (LARCAN) :

— să nu se administreze mai mult de 1 g/kilocorp/zi de grăsimi ;
— să nu depășească 15 zile de administrare ;
— perfuziile să se efectueze lent (500 ml în 4—5 ore) ;
— să nu depășească 45% din cantitatea calorică globală administrată pe zi ;
— să se administreze factori adjuvanți diferiți : vitamine, extracte hepatice, heparină, carnitină etc.

Scanned with OKEN Scanner

II. 11. LIPIDELE ÎN ALIMENTAŢIA RAŢIONALĂ A OMULUI

Nevoia de lipide este apreciată sub aspect cantitativ şi calitativ.

Sub aspect cantitativ, aceasta se evaluează la circa 25—35% din totalul caloriilor, la copii şi adolescenţi, şi la 25—30% la adulţi, ceea ce reprezintă cam 1—2 g/kilocorp/zi (în raport de munca depusă se admite şi 35% la adult).

În aprecierea raţiei lipidice se vor lua în consideraţie nu numai grăsimile ingerate ca atare, ci şi cele care intră în constituţia diferitelor alimente.

Raţia lipidică depinde de o serie de factori.

Vîrsta modifică raţia lipidică la copii, nevoia este mai crescută decît la adulţi. La bătrîni, aceasta scade pe măsura înaintării în vîrstă.

Temperatura mediului ambiant influenţează şi ea raţia lipidică. Astfel, temperaturile scăzute, însoţite de umezeală şi curenţi de aer, măresc nevoia de lipide pînă la 35—40% din valoarea calorică a raţiei.

Efortul fizic îndelungat şi greu, în profesiunile care solicită cheltuială mare de energie, mai ales cînd se supraadaugă şi temperatura scăzută a mediului în care acesta se efectuează, impune majorarea raţiei lipidice. Efortul de viteză (sportivi), hipoxia, altitudinea, scad, în general, necesarul de lipide în favoarea glucidelor.

— În timpul sarcinii se recomandă o uşoară scădere a raţiei lipidice către limita inferioară (15—20%), întrucît grăsimile măresc tendinţa la acidoză.

Din punct de vedere calitativ se va avea în vedere ca proporţia de grăsimi vegetale să constituie o treime sau maximum jumătate din cantitatea totală de grăsimi administrate, asigurîndu-se astfel aportul de acizi graşi polinesaturaţi esenţiali necesari alimentaţiei raţionale.

Grăsimile alimentare au fost împărţite din punctul de vedere al conţinutului lor în acizi graşi, în următoarele categorii (COTTET) (citat de 3) :

— grăsimi alimentare bogate în acizi graşi saturaţi : untul, smîntîna, frişca, grăsimea provenită de la animalele terestre, margarina obişnuită, grăsimea de palmier şi de nucă de cocos ;

— grăsimi alimentare bogate în acizi graşi mononesaturaţi : uleiul de arahide, uleiul de măsline, gălbenuşul ;

— grăsimi alimentare bogate în acizi graşi polinesaturaţi : uleiul de porumb, uleiul de soia, uleiul de floarea-soarelui, uleiul de rapiţă, uleiul de peşte.

Odată cu înaintarea în vîrstă se recomandă folosirea în proporţie crescută a grăsimilor care conţin acizi graşi polinesaturaţi, concomitent cu reducerea celor cu conţinut ridicat de acizi graşi saturaţi.

Într-o alimentaţie raţională cele trei principii alimentare trebuie asigurate în proporţii echilibrate. Unii au recomandat chiar anumite raporturi între diversele principii nutritive. Astfel, BIGWOOD reco-

Scanned with OKEN Scanner

mandă tinerilor care depun eforturi susținute următoarele raporturi între cantitățile de principii alimentare din rație : glucide/proteine = 3,5—5 și lipide/proteine = 1—1,5. În practică, valorile medii ale raportului dintre protide, lipide și glucide este de 1 : 1—1 : 4.

Deși limitele de variabilitate, mai ales pentru rația de glucide și lipide sînt foarte largi, iar administrarea lor variază în raport și de condițiile mediului ambiant și starea fiziologică a organismului, respectarea unui raport între aceste principii este necesar. Se recomandă, spre exemplu, ca numărul de calorii provenite din glucide să fie cel puțin dublu față de cel provenit din proteine pentru a împiedica folosirea acestora din urmă în scopuri energetice. (vezi „Tratat Dietetică" — I. Mincu, Ed. Medicală, 1974).

REZUMAT

Lipidele se definesc ca substanțe solubile în solvenți organici, dar insolubile în apă. Din punct de vedere chimic, pot conține acizi grași sau sînt numai derivați izoprenici ca sterolii sau carotenoidele. Se clasifică în : lipide neutre, amfifilice și redox. Există și o clasificare funcțională (lipide de rezervă și lipide de constituție celulară), cît și una în funcție de raportul acestora cu apa (lipide de tipul I, tipul II și tipul III care se referă la micelii).

Grăsimile, ca grupă de alimente, sînt produse eterogene care, în funcție de proveniență, se pot clasifica în : animale, vegetale și mixte, fiecare categorie cuprinzînd tipuri lichide sau solide la temperatura obișnuită.

Partea a II-a

Scanned with OKEN Scanner

I. LIPIDELE SERICE

I.1. GENERALITĂȚI

În sînge, lipidele se găsesc în elementele figurate şi plasmă. Termenul de plasmă şi ser se întrebuinţează în această monografie cu acelaşi sens.

Lipidele plasmatice, sub forma lipoproteinelor, reprezintă modalitatea lor de transport în corp în scopuri plastice şi, mai ales, energetice, aşa cum este cazul trigliceridelor, colesterolului liber sau esterificat, fosfolipidelor. Concomitent, în plasmă circulă, legaţi de albumină, acizi graşi neesterificaţi sau AGL. Menţionăm însă că esterificarea TG, FL şi a colesterolului se face cu AG, existînd deci o cantitate de AG care vor circula în plasmă sub această formă.

În acest capitol, vom analiza aspectele de biochimie dinamică ale colesterolului, trigliceridelor, acizilor graşi şi fosfolipidelor serice.

I.2. COLESTEROLUL ŞI ACIZII BILIARI

I.2.1. DATE GENERALE DESPRE COLESTEROL

Colesterolul este un derivat cu formula ilustrată în figura I.1.

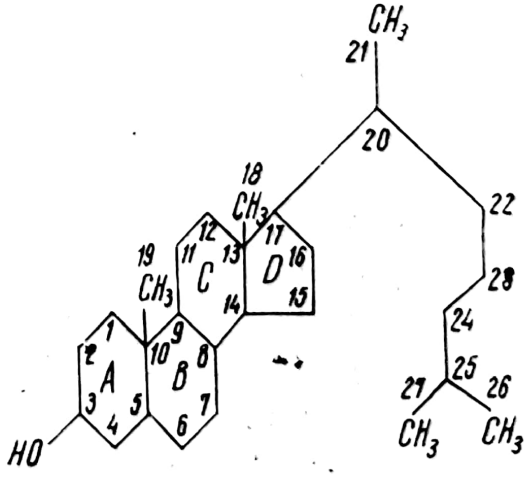


Fig. I.1. — Formula colesterolului : structura de bază este nucleul ciclopentano-perhidrofenantrenic format din 3 nuclee hexagonale (A-B-C) şi un nucleu pentagonal (D) :

în poziţiile 18 şi 19 sînt prezente două grupări metil ; între poziţiile 5—6 există o dublă legătură ; în poziţia 17 se leagă un lanţ lateral cu 8 atomi de carbon care îi conferă colesterolului particularitatea structurală ; în poziţia 3 este prezentă o funcţie alcoolică prin care se poate lega cu acizi graşi, esterificîndu-se.

Termenul de colesterol a fost folosit pentru prima dată în 1916 de Chevreuil, care căuta să definească astfel substanţa găsită în bilă (citat de 1). Totuşi, date despre colesterol, care îşi păstrează o parte din valabilitate şi astăzi, au fost acumulate începînd cu anul 1906 (1). Astfel, Pribram (1906) şi Müller (1915) aduc contribuţii la mecanismul absorbţiei intestinale a colesterolului ; între anii 1930—1940 graţie lucrărilor lui Windaus, Dieland, Ruzicka, Rosenheim, King, i se stabileşte formula chimică. Prin utilizarea trasorilor radioactivi se inaugurează o etapă nouă în elucidarea metabolismului colesterolului animal şi uman.

Lucrările de pionierat ale lui Rittenberg şi Schoenheimer (1937), care au utilizat deuteriu pentru a marca colesterolul, sînt urmate de marcarea acestui sterol cu C^{14}, metodă prin care se descifrează : compartimentarea, schimburile tisulare şi poolurile colesterolului uman. Un aport deosebit la teoretizarea şi stabilirea modelelor matematice ale dinamicii colesterolului uman sînt reprezentate de lucrările lui Casdorph (2), Gurpide (3), Goodman şi Noble (4).

Prin acumularea acestor valoroase contribuţii se pot defini funcţiile acestui sterol în organismul uman (5) :

— colesterolul este un element structural al membranei ; în cele mai multe din modelele de membrană propuse, colesterolului i se atribuie un rol de bază ;

— colesterolul este precursorul hormonilor steroizi, acizilor şi sărurilor biliare, colecalciferolului, care, la rîndul lor, îndeplinesc în organism funcţii importante ;

— colesterolul este un element structural de bază al lipoproteinelor plasmatice.

I.2.2. DINAMICA COLESTEROLULUI UMAN

Introducerea tehnicilor radioizotopice în cercetările biologice au permis aplicarea în studiul metabolismului sterolilor în general, şi al colesterolului în special, a unor metode prin care s-a descifrat nu numai sinteza, absorbţia, degradarea, dar şi dinamica acestor substanţe, exprimată în parametri exacţi (mărimea poolului, viteza şi timpul turnoverului).

A. SCHIMBURILE COLESTEROLULUI TISULAR

Într-o primă etapă (1952—1962) a studiilor, se demonstrează existenţa schimburilor de colesterol între plasmă şi ţesuturi (5). Astfel, în eventualitatea aportului exogen de colesterol urmat de o hipercolesterolemie, între plasmă şi ţesuturi se va stabili un echilibru a cărui viteză de instalare depinde de ţesuturi : rapidă (1—3 zile) pentru ficat şi eritro-

cit şi lentă (aproximativ 100 zile) pentru aortă. La aceste concluzii se ajunge datorită următoarelor experienţe principale :

— la 43 de zile după administrarea colesterolului —H^3 unor bolnavi, care decedează între timp, se constată prezenţa colesterolului în aortă (Biggs, citat de 5) ;

— la 50 de zile după perfuzia cu colesterol C^{14} a unor bolnavi, se constată prezenţa radioactivităţii în mai multe ţesuturi (Kurland, citat de 5) ;

— Le Roy şi colab. în anul 1957 (citat de 5), constată instalarea unui rapid echilibru între plasmă şi ficat după administrarea de acetat —C^{14} şi colesterol —H^3 ;

— prin utilizarea colesterolului C^{14}, administrat în perfuzie intravenoasă, Eckles şi colab. (citat de 5) conchid că colesterolul hepatic, plasmatic şi eritrocitar au acelaşi pool din cauza ritmului rapid de schimb ;

— Chobanian şi colab. (6) demonstrează, prin utilizarea colesterolului C^{14} administrat intravenos, inegalitatea diferitelor ţesuturi în schimbul cu colesterolul plasmatic, de unde rezultă viteza diferită cu care se instalează echilibrul între colesterolul unor ţesuturi şi cel plasmatic.

După instalarea „echilibrului izotopic" (colesterol tisular — colesterol plasmatic) acesta este stabil timp îndelungat, condiţionat fiind de eventualul adaus de colesterol exogen (5).

B. COMPARTIMENTAREA, POOLURILE ŞI TURNOVERUL COLESTEROLULUI UMAN

Începînd cu anul 1962, se stabileşte compartimentarea colesterolului uman ; Avigon (1962) la şobolan (7) şi Gasdorph (1963) la om (2) injectează intravenos colesterol C^{14} şi urmăresc curba radioactivităţii specifice a colesterolului în plasmă ; reprezentată grafic şi interpretată matematic, aceasta a permis să se afirme că totalul colesterolului într-un organism este distribuit în mai multe compartimente : două în concepţia lui Avigon şi patru în concepţia lui Gasdorph.

Continuarea cercetărilor, în acest sens, la om, a fost efectuată de Gurpide şi colab. (30), Goodman şi Noble (4), şi Nestel şi colab. (8). Pe baza acestor lucrări, compartimentarea totalului colesterolului în funcţie de turnoverul colesterolului plasmatic se face conform unui „model cu dublu pool" ; de fapt, el se referă la rapiditatea schimburilor între colesterolul plasmatic şi colesterolul tisular, motiv pentru care a fost denumit „modelul poolului cu dublu schimb" *(Two exchangeable pool model)*. Astfel, după Gurpide (3), se diferenţiază :

— un compartiment format din poolul ţesuturilor al căror colesterol se schimbă rapid cu colesterolul plasmatic (ore, zile) ;

— un compartiment format din poolul ţesuturilor al căror colesterol se schimbă în ritm lent cu colesterolul plasmatic (zile, săptămîni).

Conceptul asupra compartimentării colesterolului uman necesită unele precizări : colesterolul liber sau esterificat, al fiecărui țesut, reprezintă de fapt un compartiment fizic aparte (totalitatea compartimentelor asemănătoare din punctul de vedere al ritmurilor de schimb pot fi considerate ca un compartiment mai larg) ; datorită acestui lucru, organismul uman reprezintă de fapt un cumul de multiple pooluri, fiecare cu turnover și ritm de schimb propriu (9). Aceste pooluri, privite din punctul de vedere al vitezei de schimb al colesterolului tisular cu cel plasmatic, sînt perfect interpretabile prin modelul cu dublu pool. Dacă privim compartimentarea colesterolului prin prisma mecanismelor reglatoare metabolice, trebuie să acceptăm „modelul triplului pool" (9). Aceasta presupune adiționarea unui al treilea pool, pe lîngă cele două existente, cu un ritm de schimb practic zero (colesterol fix) sau extrem de lent (fig. I.2.).

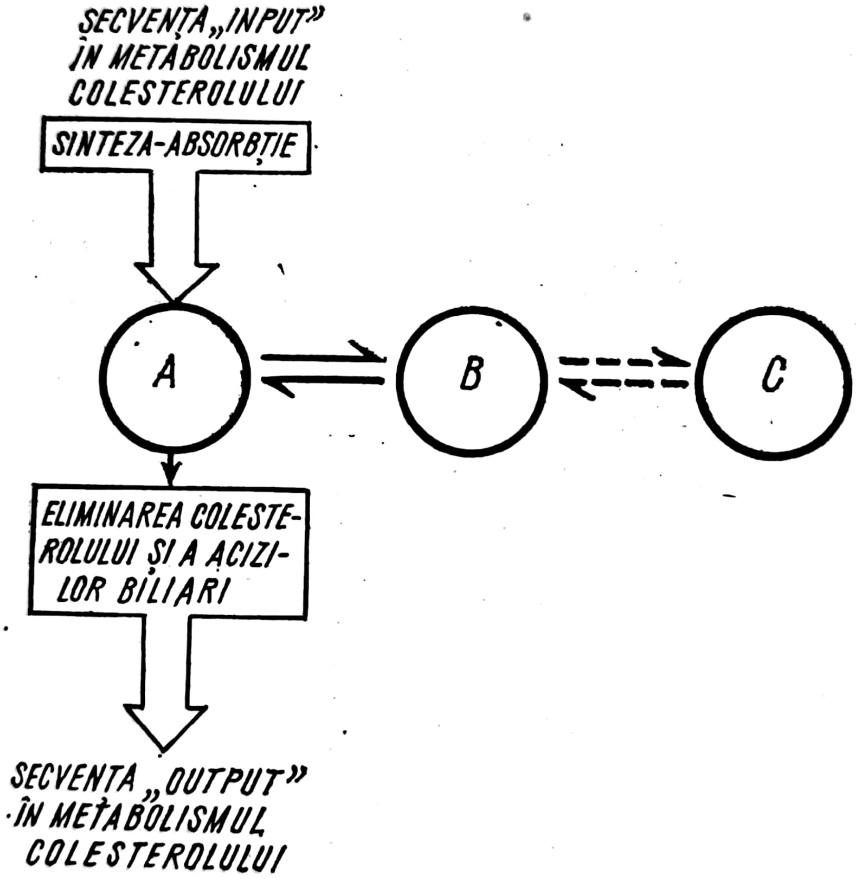


Fig. I.2. — Modelul „triplului *pool*" al colesterolului (modificat după Dietschy și Wilson, 9) :
A = *pool*-ul cu schimb rapid ; B = *pool*-ul cu schimb lent ; C = *pool*-ul cu colesterolul practic fix. Secvența „input" (sinteza și absorbția) și secvența „output" (eliminarea și degradarea) afectează numai *pool*-ul A al colesterolului.

Conceptul compartimentării colesterolului uman, exprimat prin modelul dublului sau triplului pool, cîștigă însă în importanță teoretică și practică, în eventualitatea în care la aceste două modele se

aplică „analiza input-output", din cadrul relaţiilor intereconomice (modelul Leontieff) (10), astfel :

— modelul triplului pool şi analiza input-output ne oferă un sistem unitar de interpretare a secvenţelor metabolismului colesterolului (sinteză, degradare, aport, eliminare), corelate cu compartimentarea şi dinamica sa : secvenţa „input" reprezentată de absorbţia colesterolului şi de colesterolo-sinteză afectează poolul A (cu ritm rapid de schimb) ; secvenţa „output" afectează acelaşi pool fiind reprezentată de eliminarea colesterolului şi acizilor prin bilă şi fecale. Se remarcă deci faptul că „intrările" şi „ieşirile" în modelul triplului pool se fac exclusiv prin poolul A. Fiecare din secvenţele „input-output" sînt supuse sistemelor reglatoare ale feed-backurilor care vor fi detaliate mai departe ;

— modelul dublului *pool* şi analiza „input-output" modelul dublului pool este reprezentat în figura I.3. A este poolul caracterizat prin schimb rapid, iar B este poolul caracterizat prin schimb lent. Colesterolul absorbit şi cel sintetizat în poolul A este notat prin S_A; S_B reprezintă colesterolul sintetizat în poolul B. Ritmul de eliminare al colesterolului din cele două pooluri este notat prin K_A şi K_B. Precizăm că K_B are o valoare practic egală cu zero. Rezultă, deci, că eliminarea şi degradarea colesterolului se face în poolul A (5).

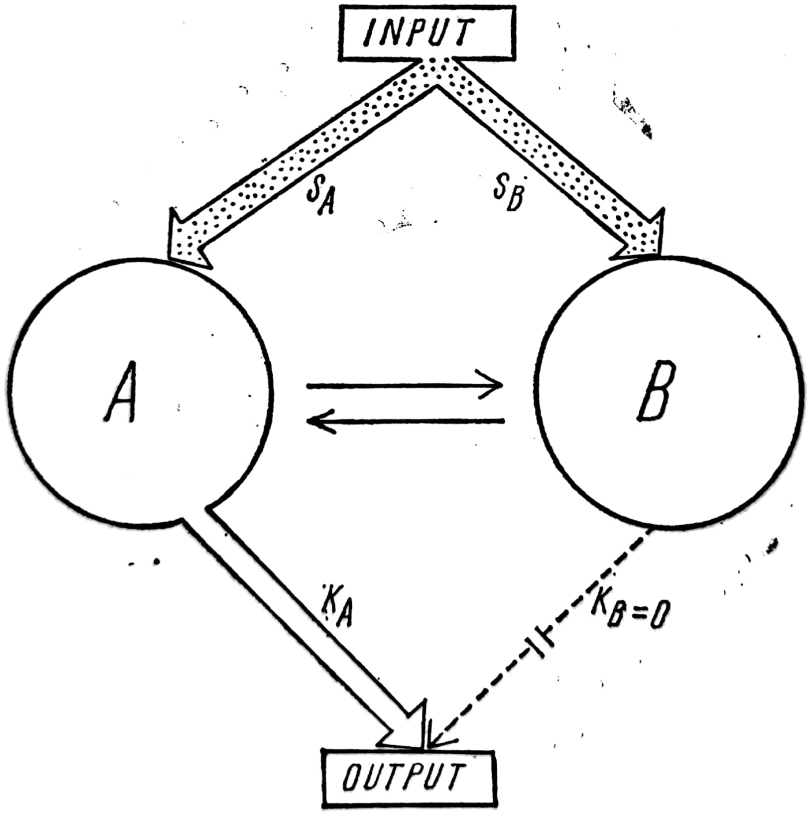


Fig. I.3. — Modelul „dublului *pool*" al colesterolului (modificat după Gurpide şi colab. 3) :

A = *pool*-ul cu schimb rapid ; B = *pool*-ul cu schimb lent. S_A = secvenţa „input" în *pool*-ul A ; S_B = secvenţa „input" în *pool*-ul B ; K_A = ritmul de eliminare din *pool*-ul A ; K_B = ritmul de eliminare din *pool*-ul B, care practic este egal cu zero ; datorită acestui fapt secvenţa „output" se referă de fapt la eliminările din *pool*-ul A.

Pe lîngă contribuţiile de ordin teoretic pe care le aduce prin această metodă de studiu, la care s-au aplicat teoremele Stewart-Hamilton pentru flux şi volum (5), s-a definit numeric ritmul turnoverului colesterolului uman, mărimea celor două pooluri cît şi timpul mediu de schimb. Astfel, poolul cu ritm rapid de schimb este reprezentat de 30 g colesterol, pe cînd poolul cu ritm lent de schimb cuprinde 50 g colesterol; ritmul turnoverului colesterolului este de 1 g/zi. 80 de zile reprezintă valoarea medie atribuită pentru tranzitul colesterolului prin corpul uman. Din totalul de 140 g colesterol al unui adult, 60 g (42%) este reprezentat de colesterolul fix, neschimbabil, localizat în special în sistemul nervos (tabelul I.1.).

Tabelul I.1

Principalii parametri cinetici în metabolismul colesterolului (după Ho şi Taylor — 6)

Pool-ul echilibrat rapid	30 g
Pool-ul echilibrat lent	50 g
Rata turnoverului	1 g/24 h
Timpul mediu de tranzit	80 zile

În tabelul I.2., redăm distribuţia estimativă a colesterolului în principalele organe şi ţesuturi din organismul uman.

Tabelul I.2

Distribuţia estimativ a colesterolului în ţesuturile unui subiect de 70 kg (simplificat după Ho şi Taylor — 6)

Organe şi ţesuturi	Concentraţia colesterolului (gr. % ţesut)	Colesterol (g)
Suprarenală	20	1,08
Sistem nervos	10	35,8
Plămîn	2,5	4,0
Rinichi	1,75	1,31
Testicole	1,65	0,07
Tractul digestiv	1,40	6,30
Ficat	1,0	5,00
Vasele mari	0,75	0,23
Pancreas	0,75	0,43
Inimă	0,70	0,48
Tegumente	0,60	7,74
Muşchi	0,35	26,25
Ţesutul conjunctiv (inclusiv ţesutul adipos)	0,25	31,3
Sînge	0,2	10,8

Foarte recent (în 1976), prin observarea de lungă durată a subiecţilor normolipidemici şi a bolnavilor cu HLP tip IIa, IIb şi IV, la care s-a aplicat modelul „triplului pool", se precizează că (165):

— rata producţiei colesterolului este aproximativ egală la normali şi la hiperlipidemici (1,14 ± 0,19 g/zi), corelînd cu greutatea corporală;

— poolul cu schimb rapid, corelează cu greutatea corporală, excesul ponderal, colesterol şi trigliceride serice ;

— poolul cu schimb lent, nu corelează cu nici un astfel de parametru ;

— poolul cu schimb foarte lent, corelează cu excesul ponderal şi cu colesterolul seric.

1.2.3. SECVENŢA „INPUT" ÎN METABOLISMUL COLESTEROLULUI

A. ABSORBŢIA COLESTEROLULUI

PROBLEME GENERALE

Încă din anul 1916, Müller şi Schoenheimer au efectuat lucrări asupra absorbţiei colesterolului, arătînd rolul bilei în acest proces, însă doar din anul 1933, graţie cercetărilor lui Schoenheimer şi Breusch (citat de 9) se admite cu certitudine rolul acizilor biliari în absorbţia şi sinteza colesterolului. În anul 1952, Siperstein şi collab. (citat de 1), utilizînd colesterol —C^{14}, dovedesc obligativitatea prezenţei acizilor biliari în absorbţia intestinală a colesterolului. O contribuţie teoretică remarcabilă în această problemă este adusă prin lucrarea — sinteză — realizată de Treadwell şi Vahouny în anul 1968 (12).

Absorbţia colesterolului are loc în jejun, acolo unde se întrunesc condiţii optime pentru producerea sa : prezenţa sucului pancreatic şi al bilei. La acest nivel, există zilnic aproximativ 2,4 g colesterol : 1 g colesterol alimentar exogen (0,5—2 g pe 24 h), 1 g colesterol provenit din totalul bilei eliminate în 24 ore (1 mg/ml), 400 mg colesterol aflat în secreţia sau descuamaţiile intestinale (5). 85—90% din colesterolul alimentar se găseşte sub forma colesterolului liber, iar 10—15% sub forma colesterolului esterificat (5, 11, Keys, citat de 5).

Deşi în timpul digestiei, colesterolul alimentar şi cel endogen sînt intim amestecaţi (5), procentul absorbţiei lor intestinale este diferit (6, 7, Karvinen, citat de 5). Karvinen demonstrează la 16 subiecţi un procent de absorbţie a colesterolului endogen de 50%. În cazul colesterolului exogen, studiile lui Kaplan (13), evidenţiază o capacitate limitată de absorbţie la subiecţii care au ingerat între 0,5 şi 10,4 g colesterol/24 h. În medie, se admite un procent de absorbţie a colesterolului exogen de 25% (250 mg colesterol/24 h, la un turnover de 1 g/24 h). Această absorbţie redusă a colesterolului exogen a fost demonstrată şi de alţi autori (14, 15) chiar în cazurile de hipercolesterolemie.

ETAPELE ABSORBŢIEI COLESTEROLULUI MECANISME REGLATOARE

În figura I.4., sînt redate datele principale din mecanismul absorbţiei colesterolului, conform concepţiei lui Treadwell şi Vahouny (12). În lumenul intestinal se află un amestec intim de colesterol exogen

Scanned with OKEN Scanner

şi endogen sub formă liberă sau esterificată. Colesterolesteraza pancreatică hidrolizează esterii de colesterol, formînd colesterolul liber, singura formă absorbabilă. Aceasta, împreună cu acizii biliari şi alte substanţe amfifilice (acizi graşi şi monogliceride) se solubilizează în micelii mixte,

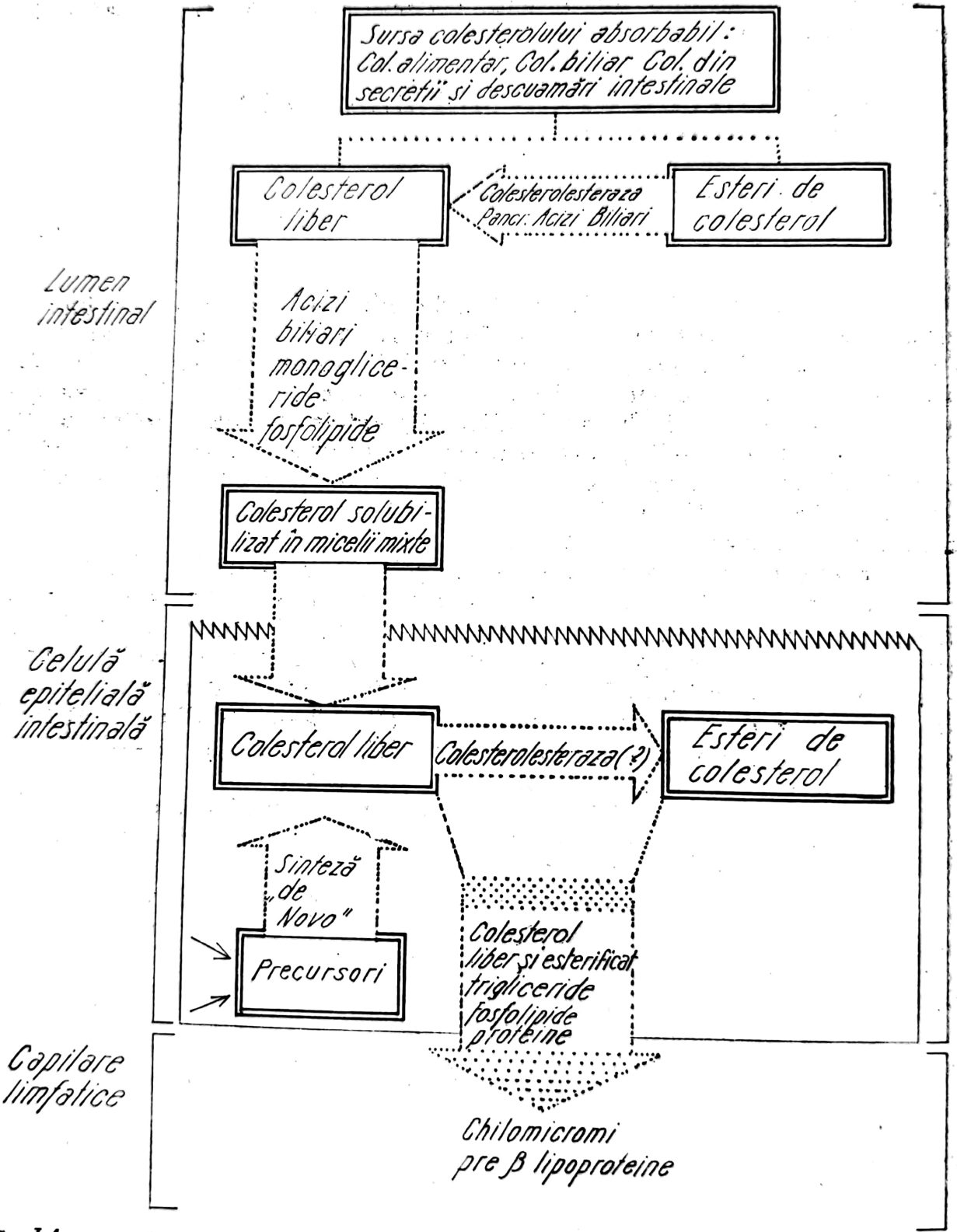


Fig. I.4. — Etapele absorbţiei colesterolului — modificată după Treadwell şi Vahouny, 12, (detalii în text).

formă prin care vine în contact cu epiteliul intestinal. În acest moment, colesterolul trece din difuziune pasivă prin membrana celulară, pătrunde în celulă, unde se amestecă cu colesterolul provenit din sinteza „de novo" intracelulară. Se produce o nouă esterificare a sa, după care trece în capilarele limfaticelor intestinale, împreună cu alte lipide şi proteine pentru a forma chilomicronii. Prin ductul toracic, pătrunde apoi în circulaţia sistemică. Aceste etape sînt, în realitate, mecanisme complexe a căror descifrare a necesitat laborioase studii, în elucidarea mecanismelor reglatorii.

a) *Hidroliza esterilor de colesterol în lumenul intestinal*

Hidroliza intraluminală a esterilor de colesterol şi micelizarea reprezintă o etapă obligatorie a absorbţiei (16). Ea are loc graţie colesterolesterazei din sucul pancreatic în funcţie de *p*H-ul local (3). Un element indispensabil al hidrolizei este prezenţa acizilor biliari în lumenul intestinal (2), dintre care acidul colic şi chenodeoxicolic sînt cei mai importanţi (12). Se pare că ei joacă rolul de cofactor enzimatic (17) sau protejează enzima împotriva acţiunii proteolitice a tripsinei şi chemotripsinei (12). Recent s-a sugerat că activarea colesterolesterazei ar depinde de prezenţa unei colipase polipeptidice (18).

b) *Solubilizarea colesterolului în micelii — micelizarea*

Formarea colesterolului liber este urmată de solubilizarea sa în soluţia de acizi biliari (raţie moleculară 25/1 în cazul taurocolatului) alături de alte lipide polare, amfifilice (fosfolipide, monogliceride) a căror prezenţă este obligatorie (19, 20). Se formează astfel miceliile mixte, modalitatea prin care colesterolul este pus în contact cu suprafaţa epiteliului absorbtiv intestinal (21). Nu se ştie dacă miceliul mixt este o formă de vehiculare, sau are un rol specific în absorbţie (17).

Simmonds şi colab. (22), prin perfuzie intraduodenală de colesterol, monogliceride şi săruri biliare, demonstrează importanţa fazei micelare în absorbţia jejunală a colesterolului exogen. Concomitent, se evidenţiază rolul lipidelor alimentare în creşterea absorbţiei colesterolului. Scăderea absorbţiei are loc în cazul aportului alimentar de steroli vegetali (sitosteroli), care intră în competiţie cu colesterolul la nivelul fazei micelare.

c) *Pătrunderea colesterolului în celulele epiteliului intestinal*

Transferul colesterolului din lumen, în celulele epiteliului intestinal, este cunoscut numai parţial. Există mai multe ipoteze explicative, rezultante ale experimentelor pe animale ; extrapolarea lor la om nece-

Scanned with OKEN Scanner

sită prudență. Feldman și colab. (23) presupun că transferul este un proces constituit din două etape : prima ar fi difuziunea necondiționată de acizi biliari, pe cînd a doua reclamă condiții termice adecvate și prezența acizilor biliari. Schultz și Strecker (24) afirmă că miceliile se desfac în momentul contactului cu celula epiteliului absorbtiv, după care moleculele componente vor difuza pasiv prin membrana celulară.

Nu se cunosc mecanisme de reglare ale absorbției colesterolului la acest nivel.

d) *Transferul intracelular al colesterolului*

Transferul intracelular al colesterolului spre capilarele limfatice se face în două etape :

— în primul rînd, are loc amestecarea colesterolului absorbit cu colesterolul provenit din sinteza intracelulară „de novo" (17) ;

— ulterior, o mare parte a acestui pool al colesterolului liber intracelular este esterificat cu acizi grași cu lanț lung. Esterificarea este un proces foarte important al absorbției, dacă nu chiar esențial (17). Nu se cunoaște dacă pancreasul sau acizii biliari induc sau reglează această activitate enzimatică intracelulară. Se poate afirma numai că ea depinde de un circuit entero-hepatic normal, al sărurilor biliare (11).

e) *Formarea chilomicronilor*

Colesterolul esterificat (în cea mai mare parte) și colesterolul liber trec în capilarele limfatice împreună cu proteine, fosfolipide și trigliceride pentru a forma chilomicronii și prebeta-lipoproteinele. Mecanismul intim al acestui pasaj este insuficient cunoscut (11, 17).

O privire de ansamblu asupra absorbției intestinale a colesterolului ne permite un scurt comentariu integrator cu referire mai ales la mecanismele de reglare.

Atît la animale, dar, mai ales, la om, absorbția colesterolului este un proces lent comparativ cu absorbția trigliceridelor (17). În ciuda numeroaselor studii ce abordează problema metabolismului colesterolului, pînă în prezent nu s-a elucidat natura și mecanismul limitant al absorbției sale. Unii factori care influențează mai mult sau mai puțin absorbția colesterolului au fost amintiți : prezența acizilor biliari sau a lipidelor neutre exogene în lumenul intestinal (între prezența acizilor biliari și a grăsimilor neutre în intestin și absorbția colesterolului există o relație direct proporțională). Dacă acizii biliari sînt operanți la nivelul hidrolizării și micelizării colesterolului, grăsimile neutre intervin în faza micelară și mai ales în faza limfatică, unde contribuie la formarea chilomicronilor sau prebetalipoproteinelor. Aceste lipoproteine sînt acceptori ai colesterolului absorbit : prebeta-lipoproteinele, predominant pentru colesterolul exogen, iar chilomicronii, predominant pentru colesterolul endogen (25). Ele pot fi implicate în mecanismele reglatoare ale absorbției colesterolului. Astfel, în cazul unui aport alimentar crescut de grăsimi neutre, micelizarea colesterolului va fi facilitată, deși canti-

Scanned with OKEN Scanner

tatea de acizi biliari necesară pentru aceasta trebuie să fie mai mare. Concomitent, creşte şi absorbţia trigliceridelor şi fosfolipidelor avînd ca finalitate formarea chilomicronilor şi prebeta-lipoproteinelor. În felul acesta se favorizează absorbţia colesterolului şi la al doilea nivel (creşterea acceptorilor). Privind etapele trecerii colesterolului din lumenul intestinal spre limfă, se pare că pasajul celulă intestinală-limfă este limitant (26), dar nu poate fi invocat ca unic factor al ritmului lent al absorbţiei colesterolului la om.

Comparativ cu celelalte etape ale sistemului input-output, absorbţia colesterolului ne apare ca singura în care nu s-a evidenţiat un sistem de control feed-back negativ, deşi sînt premise teoretice pentru existenţa sa (spre exemplu, necesitatea existenţei lipoproteinelor ca acceptor al colesterolului) (17).

Inconsistenţa datelor referitoare la absorbţia colesterolului, şi mai ales a mecanismelor sale reglatoare, ar putea fi explicată cel puţin în parte prin lipsa unei metodologii adecvate de studiu. Tehnica bilanţului izotopic, a bilanţului chimic sau combinarea lor, prezintă multe limite, în special în aprecierea absorbţiei totale a colesterolului, sau a circulaţiei sale în ciclul entero-limfatic, sau entero-hepatic (27).

B. BIOSINTEZA COLESTEROLULUI

PROBLEME GENERALE

Descifrarea etapelor colesterolosintezei, în cadrul mai larg al steroidogenezei, a fost una din marile succese ale biochimiei ; meritul acestei reuşite revine mai multor şcoli, dar trebuie reţinut cu evidenţă numele lui Lynen, Popjak, Bloch, Rittenberger. Departe de a fi încheiată, mai ales sub raportul reglărilor fine intracelulare, biosinteza colesterolului suscită în continuare interesul a numeroase echipe de cercetare. O valoroasă referinţă de ordin teoretic, asupra acestei probleme, aparţine lui Frantz şi Shroepfer (1967) (28). Progresele înregistrate de atunci, cu deosebire în sistemele enzimatice catalizante ale colesterosintezei, o completează în chip strălucit.

ETAPELE BIOSINTEZEI COLESTEROLULUI

În figura I.5., modificată după Kang şi Taylor (5), sînt redate secvenţele colesterolosintezei ; succesiunea reacţiilor este următoarea (5, 17, 28, 29, 30, 31) :

— acetatul provenit din catabolismul aminoacizilor, hidraţilor de carbon sau acizilor graşi, este activat (secvenţa 1) ; două molecule de acetat activ se condensează sub acţiunea unei tiolaze şi formează aceto acetil-CoA (secvenţa 2) ; aceasta se combină cu o nouă moleculă de acetat activ şi sub acţiunea betacetotiolazei se produce betahidroxi-betametil-glutaril-CoA (HMG), etapă specifică pentru sinteza colesterolului (secvenţa 3). La acest metabolit se ajunge şi direct prin metabolismul leucinei (secvenţa 4). Acidul HMG este redus treptat pînă la

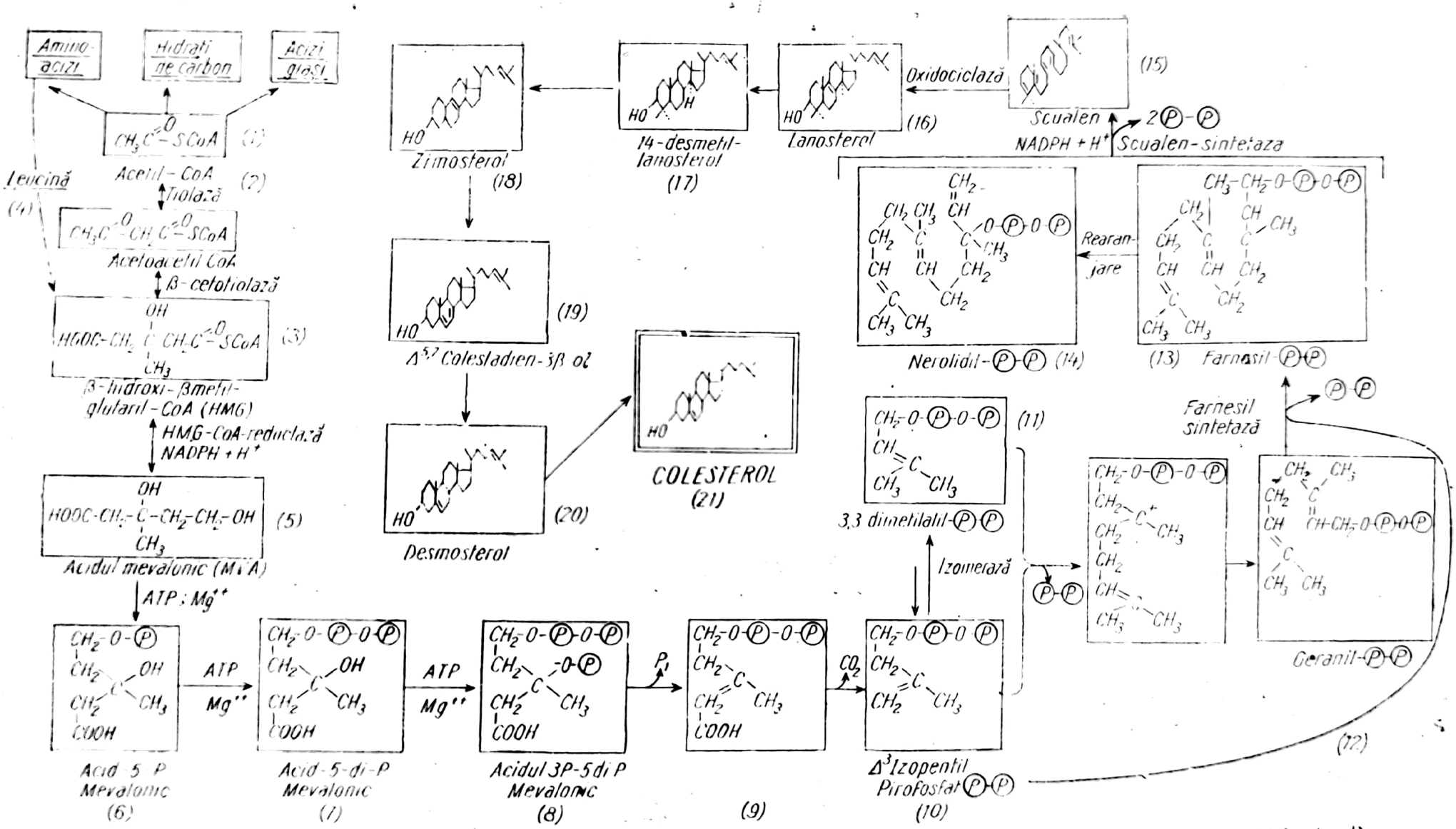


Fig. I.5. — Călie sintezei colesterolului — modificată după Kang și Taylor, 5 ; (explicații în text).

acidul mevalonic prin acţiunea hidroxi-metil-glutaril-CoA-reductazei în prezenţa NADPH (secvenţa 5). Urmează o serie de reacţii (secvenţele 6—7—8) care reclamă ATP şi magneziu, în urma cărora se formează compuşi fosforilaţi : acidul 5-P-mevalonic (secvenţa 6) ; acidul 5-di-P-mevalonic (secvenţa 7), acidul 3-P, 5 di-P mevalonic (secvenţa 8). Ultimul compus pierde treptat fosfor şi CO_2 (secvenţa 9), transformîndu-se în izopentilpirofosfat (secvenţa 10), care, prin izomerizare dă naştere la dimetil-alil-pirofosfat (secvenţa 11). Prin combinarea unei molecule de izopentil pirofosfat cu o moleculă de dimetil-alil-pirofosfat se formează geranil-pirofosfat (secvenţa 12) care recombinîndu-se cu o nouă moleculă de izopentil pirofosfat generează farnesil-pirofosfat (secvenţa 13) sub acţiunea farnesilsintetazei. Prin rearanjarea moleculei de farnesil se formează nerolidil-pirofosfat (secvenţa 14). Ambele sînt supuse activităţii unei enzime de condensare, scualen-sintetaza, care în prezenţa NADPH, formează scualenul (secvenţa 15). O nouă enzimă, oxidociclaza, ciclizează scualenul transformîndu-l în lanosterol (secvenţa 16). Acesta, prin oxidoreducere, devine zimosterol (secvenţa 18), trecînd prin 14-desmetil-lanosterol (secvenţa 17). Izomerizarea zimosterolului, prin etapa de delta-colestadien-3-beta-ol (secvenţa 19), va forma desmosterolul (secvenţa 20) care, prin pierderea dublei legături din catena laterală, generează colesterolul (secvenţa 21).

Aceasta este schema generală a colesterologenezei care, în cea mai mare parte, are loc în microsomii hepatocitelor (38). Teoretic însă, orice ţesut dotat cu sistemul enzimatic corespunzător (peretele intestinal, pielea, muşchiul, ţesutul adipos (32), ovarul, testicolul (30), este capabil de această sinteză sterolică (9).

Fiecare etapă a colesterolosintezei este foarte complexă, de multe ori subdivizată în alte etape intermediare, datorită interferenţelor treptate enzimă-substrat. Aşa este, de exemplu, cazul scualen-sintetazei, farnesil-pirofosfatului şi scualenului (33). În cele ce urmează vom detalia două aspecte a căror descifrare este de dată mai recentă : leucina şi colesterologeneza ; sistemul multienzimatic al transformării lanosterolului în colesterol.

Leucina şi colesterologeneza

Presupunerea că leucina este un precursor al colesterolului datează încă din 1944 (34), dar ulterior, în momentul demonstrării transformării sale în alfa-cetoizocaproat, mecanismul în intimitatea sa a fost elucidat (35) (figura I.6), deoarece această substanţă este precursorul acidului HMG. Astfel, leucina intră în etapele sintezei colesterolului, ocolind pool-ul acetatului (36). Prin administrarea leucinei —C^{14} (Kabara, citat de 36), sau a leucinei —H^3 (Miettinen, citat de 36) la şobolani, se evidenţiază creşterea sintezei de colesterol în intestin şi muşchi. Această modalitate de sinteză a colesterolului se întîlneşte şi în ficat, în cazul inhibiţiei colesterolosintezei calea acetat prin *feed-back*-urile negative dintre HMG şi mevalonat (36). Totuşi, la subiecţi normali această cale de sinteză hepatocitară a colesterolului este neglijabilă.

Leucina poate participa la sinteza colesterolului chiar şi pe calea acetat, aşa cum a demonstrat Miettinen (36), în urma administrării de leucină —H^3 la om. Astfel, se postulează că aminoacidul sau metabolitul său alfa-cetoizocaproatul se metabolizează, în ficat, şi în acetat. În

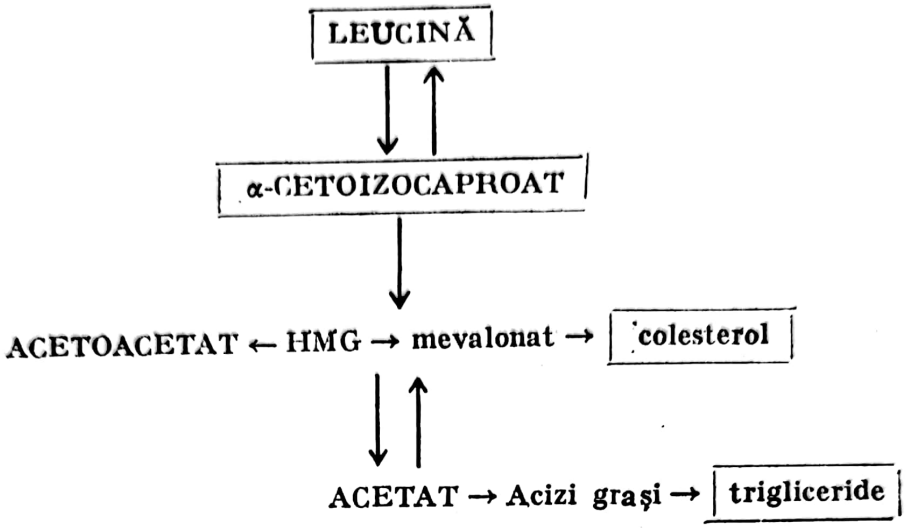


Fig. I.6. — Participarea leucinei la sinteza colesterolului şi a trigliceridelor (HMG — betahidroxibetametilglutaril-CoA).

experimentul mai sus menţionat, sinteza colesterolului —H^3 este evidenţiată fie trecînd de la HMG-H^3, fie de la acetat —H^3. Aceasta din urmă poate participa şi la sinteza trigliceridelor calea acizi graşi (36).

Se pare că sinteza colesterolului şi trigliceridelor, utilizînd calea leucinică, prezintă importanţă în unele stări hiperlipidemice.

Transformarea lanosterolului în colesterol

Schematic, transformarea lanosterolului în colesterol este reprezentată în figura I.5. (secvenţa 16—21). Complexitatea lor este însă deosebită (37) fiind descifrată numai în ultimii ani. Dificultatea a constat în faptul că biosinteza colesterolului din lanosterol este un proces multienzimatic legat de fracţia microsomială a hepatocitului sau a celulelor altor organe (38), (sistem multienzimatic microsomomembranar dependent).

Evidenţierea sistemului multienzimatic necesar acestor etape de colesterolosinteză a fost deosebit de laborioasă, ajungîndu-se pînă în prezent la definirea următoarelor enzime principale (37) : metil-sterol-oxidaza, alcooldehidrogenaza, 5-alfa-hidroxisteroid-dehidraza, S-adenozil-metionină-delta^{24} sterol-metiltransferaza, prenol-pirofosfatpirofosfohidraza, 3-cetosteroid-reductaza, steroidizomeraza, citocromreductaza.

Recent, s-a demonstrat că în etapele de transformare a scualenului în colesterol intervin nu numai aceste enzime, ci şi două proteine dependente tot de membrana microsomială denumite „proteine transportoare de sterol$_1$" (sterol carrier protein-SCP$_1$). Ele se unesc cu substratul (precursorii colesterolului) făcîndu-l accesibil acţiunii complexului multienzimatic (38 a).

C. REGLAREA SINTEZEI COLESTEROLULUI

ASPECTE TOPOGRAFICE ŞI CANTITATIVE

Practic, orice ţesut uman sau animal, dotat cu aparatul enzimatic corespunzător, este capabil de biosinteza „de novo" a colesterolului. Totuşi, în condiţii normale, sursa majoră a colesterolului endogen este reprezentată de sinteza sa în ficat, urmată de tractul gastro-intestinal şi tegumente. Aceasta realizează 98% din totalul sterolilor sintetizaţi la maimuţă (9), din care 97% produşi în ficat şi în intestin. În tabelul I.2.3. este reprezentată raţia biosintezei colesterolului în diferite organe la şobolani şi maimuţă, supuşi unor regimuri alimentare diferite.

Colesterolosinteza în hepatocit este cel mai bine studiată sub raportul cantitativ şi reglator (comentariul general asupra biosintezei colesterolului se referă de fapt la aceasta).

Biosinteza colesterolului în peretele intestinului subţire a fost elucidată în mare parte, atît sub raport secvenţial cantitativ, cît şi reglator (39). Prin studiul incorporării acetatului în sterolii digitoninici, efectuat pe material biopsic (9) se evidenţiază diferenţe regionale ale colesterolosintezei enterale umane. Astfel, ritmul cel mai înalt a fost găsit în ileon pe cînd în duoden şi jejunul proximal acesta a fost scăzut (9, 33). Comparativ cu ficatul, în intestin calea leucinică este mai accentuată în biosinteza colesterolului (36).

În ultimii ani, s-a evidenţiat rolul ţesutului adipos în sinteza şi, mai ales, în depozitarea colesterolului (32. 40). Astfel, în anul 1969, Nesttel şi colab. (32) corelează turnoverul colesterolului cu greutatea subiecţilor, conchizînd că, colesterolul din ţesutul adipos poate influenţa turnoverul colesterolului total, în special la obezi. În anul 1970, Angel şi Farkas (40), studiind adipocitul izolat, afirmă rolul de depozit de colesterol al ţesutului adipos, unde acesta se găseşte sub formă esterificată (2/3 din totalul său) şi liberă (1/3). Sursa colesterolului adipocitar ar fi colesterolul alimentar. În condiţii patologice însă, poate avea loc şi sinteza „de novo" a colesterolului în ţesutul adipos, precursorul fiind leucina (36). În anul 1973, Hestel şi colab. (32), administrînd colesterol —C-4^{14} şi colesterol —H^3-1,2 la obezi normocolesterolemici, şi aplicînd metoda analizei compartimentale cu dublu pool, afirmă că, creşterea turnoverului poolului B la obezi este consecinţa hipersintezei colesterolului în adipocit. Totuşi, *in vitro*, biosinteza colesterolului din glucoză în ţesutul adipos este scăzută. În aprecierea rezultatelor proprii, Nestel şi colab. (41) au utilizat metoda bilanţului sterolilor în fecale. Oricum, rezultatele au determinat afirmaţia după care totalul biosintezei colesterolului uman este direct proporţional cu greutatea şi celularitatea ţesutului adipos.

Recent, Schreibman şi Dell (164) aduc remarcabile contribuţii la studiul colesterolului din adipocitul uman, unde se apreciază că se găseşte în cantitate de 0,77—0,87 mg/g lipide (0,6% sub formă esterificată şi 0,94% sub formă „liberă"). Repartiţia sa nu este în membrană, ci sub formă de depozit intracelular, direct proporţional cu cantitatea de

trigliceride adipocitare şi cu mărimea adipocitului. Concentraţia colesterolului, sau LDL plasmatic, nu afectează biosinteza colesterolului adipocitar. Acest proces, la nivelul ţesutului adipos, este slab reprezentat din punct de vedere cantitativ. Sub raport cinetic, colesterolul adipocitar se consideră că face parte din poolul B (cu schimb lent).

REGLAREA INTRACELULARĂ A SINTEZEI COLESTEROLULUI

Capitol pasionant, reglările metabolice intracelulare, insuficient conturate încă, constituie şi în cazul biosintezei colesterolului uman sau animal, un punct de minimă rezistenţă. Pînă în prezent s-au acumulat o serie de date referitoare la aceste secvenţe metabolice.

În anul 1969, Boyd şi Onajobi (44) studiază pe homogenatul de ficat de şobolan influenţa apolipoproteinei B asupra sintezei de colesterol. În condiţii de aerobioză proteina izolează scualenul (cu care formează un complex) din lanţul colesterolosintezei şi, în felul acesta, blochează (fig. I.7).

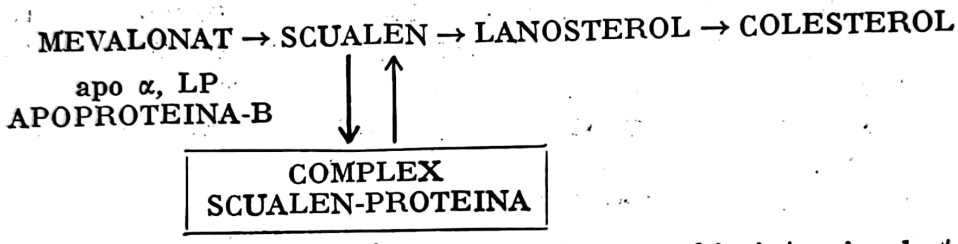


Fig. I.7. — Ipoteza rolului apoproteinei-B asupra biosintezei colesterolului — simplificat după Boyd şi Onajobi, 44. (explicaţii în text).

Cercetările ulterioare s-au referit mai ales la variaţia diurnă a betahidroxi-betametil-glutaril-CoA-reductazei (HMG) enzimă cheie a biosintezei colesterolului. Pornind de la faptul că există o variaţie diurnă a biosintezei hepatice de proteine (44, 45, 46), s-a evidenţiat şi o periodicitate diurnă a unor enzime hepatice, fenomen ce poate fi explicat prin ritmul sintezei în microsomii hepatocitari, cît şi prin degradarea lor (47). O astfel de enzimă este HMG-reductaza. La şobolanul hrănit „ad libidum", activitatea enzimei scade de 10 ori în cursul nopţii comparativ cu ziua. Această periodicitate a fost ulterior observată chiar la animalele înfometate (48, 49) explicîndu-se periodicitatea ritmului sintezei colesterolului din acetat (50). Fenomenele au devenit mai clare începînd cu anul 1970 cînd, Kawachi şi Rudney au izolat o HMG-reductază foarte pură (51). Ulterior s-a demonstrat că această enzimă sintetizată în ficat este activă 6 ore, după care urmează o completă inactivitate timp de 15 ore (52). Se postulează existenţa şi a altor enzime a căror activitate are periodicitate diurnă şi care ar fi operante pe calea biosintezei colesterolului, înaintea HMG-reductazei (53).

Explicaţia variaţiei activităţii acestor enzime hepatice depăşeşte cadrul reglărilor metabolice intracelulare pure, deoarece se incriminează existenţa unui mecanism trigger legat de mesajele senzoriale produse de foame, de nivelul HMG-reductazei (37) sau de corticosteroizi (54).

Scanned with OKEN Scanner

Legat de această ultimă afirmaţie a reglărilor fine intracelulare hormonodependente, ne apar ca foarte interesante lucrările lui Taylor şi colab. Într-o recentă sinteză (37), ei afirmă că în controlul intracelular al biosintezei colesterolului este uşor de prezis, dar greu de demonstrat. Dificultăţile sînt de ordin tehnic, deoarece enzimele sînt legate de lipidele membranei microsomiale, produşii reacţiilor enzimatice sînt liposolubile, iar lipidele din membrana microsomială inhibă produsul final (37). Totuşi, începînd cu anul 1965, se inaugurează o serie de studii care au condus pînă în prezent la concluzii interesante. Astfel, se sugerează posibilitatea autoreglării intracelulare a biosintezei colesterolului de către produsul final steroidic (55, 56). Conceptul inhibiţiei sterolosintezei de către sterolii înşişi ca produşi finali intracelulari, prin mecanism alosteric, este deosebit de atrăgător. El a fost dezvoltat mai ales după izolarea recentă a decarboxilazei (57). Astfel, s-a demonstrat că în etapele de sinteză lanosterol-colesterol, enzimele răspunzătoare de demetilare şi decarboxilare (demetilaza şi decarboxilaza) sînt diferit inhibate de către diferiţi steroizi (37).

În prezent nu se ştie dacă inhibiţia steroidică se referă la o singură enzimă sau la întregul sistem multienzimatic. Mai plauzibilă se pare a fi inhibiţia enzimatică individuală a demetilazei, meti-sterol-oxidazei şi decarboxilazei.

Un fenomen deosebit de interesant a fost evidenţiat în anul 1965 (58), prin demonstrarea stimulării metil-sterol-demetilazei testiculare de către hormonii gonadotropi (gonadotrofina); s-a emis ipoteza controlului hormonal strict intracelular al biosintezei colesterolului. Acesta se produce prin alterarea calitativă şi/sau expunerea cantitativă a enzimelor microsomiale la inhibiţia steroidică. În figura I.8. este

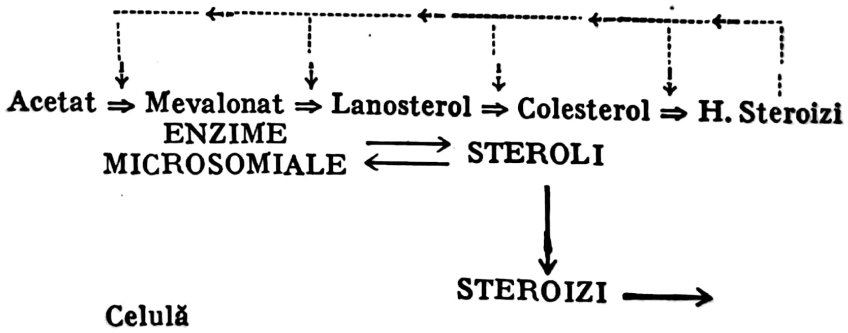


Fig. I.8. — Inhibiţia sterolosintezei prin produsul final (hormoni steroizi) (partea de sus a figurii); stimularea sterolo-sintezei sub influenţa gonadotropilor — modificată după Taylor şi colab., 37 (explicaţii în text).

ilustrată inhibiţia colesterolosintezei şi steroidogenezei de către steroli şi efectul stimulator al hormonilor gonadotropi prin îndepărtarea sau scăderea produsului final din celulă (37).

Alţi produşi finali ai metabolismului colesterolului în ficat (acizii biliari) inhibă sinteza acestuia prin inhibiţia metil-sterol-demetilazei şi HMG-reductazei din microsomii hepatocitari (37, 59).

Prin prepararea HMG-reductazei purificate se inițiază de fapt cercetări asupra posibilității existenței alosterismului ei, care ar putea clarifica multe aspecte ale reglării biosintezei colesterolului (52).

Capitolul reglărilor metabolice intracelulare în general, al colesterolosintezei în special, este pasibil de completări în viitorul apropiat. Dar oricum, extrapolarea la om a rezultatelor în cea mai mare parte la animale este dificilă și necesită multă prudență. Ea ar putea oferi însă baza de plecare a unor cercetări privind terapia hipocolesterolemiantă.

REGLAREA SINTEZEI COLESTEROLULUI PRIN MECANISME EXTRACELULARE

Deoarece biosinteza colesterolului are loc predominant în ficat și intestinul subțire, este explicabil de ce obiectivul principal al cercetărilor ce au drept scop reglarea secvenței „input", se referă cu deosebire la aceste două organe.

După Dietschy și Wilson (9), ritmul colesterolosintezei este reglat de 3 factori fiziologici : cantitatea colesterolului alimentar, aportul caloric alimentar și integritatea funcțională a circuitului enterohepatic, al acizilor biliari. La acestea se adaugă și mecanismele neurohormonale. În ultimă instanță organele țintă sînt : ficatul, intestinul și, în mai mică măsură, resursele extrahepatice și extraenterale ale colesterolosintezei.

a) *Reglarea colesterolosintezei în ficat*

Influența colesterolului alimentar

Abordarea mecanismelor reglatorii ale colesterolosintezei hepatice începe în jurul anilor 1950—1951 (50, 61), cînd se afirmă pentru prima dată scăderea sintezei de colesterol în țesutul hepatic prelevat de la animalele hrănite cu dietă hipercolesterolemiantă. De atunci, argumente în favoarea acestei observații inițiale au fost numeroase. În tabelul I.3.

Tabelul I.3

Rata colesterolosintezei în funcție de aportul alimentar de colesterol sau foame (simplificat după Dietschy și Wilson — (27)

Țesut	Șobolan			Maimuță		
	Colesterol alimentar scăzut	Colesterol alimentar crescut	Foame — 48 h	Colesterol alimentar scăzut	Colesterol alimentar crescut	Foame
Ficat	179±98	1,2±0,3	16± 3	613±176	25±16	36
Fleon	114±55	8,9±17	69±10	104± 25	49±25	48
Colon	56±32	60± 4	33± 6	72± 22	51±14	39

* Cifrele reprezintă : μ moli acetat 2—C^{14} încorporat în steroli (g) țesut în timp de 2 ore.

se observă scăderea netă a colesterolului hepatic la şobolan şi maimuţă supuşi unor regimuri hipercolesterolemiante timp de 1—6 săptămîni.

O depresie parţială a biosintezei colesterolului hepatic se observă la animale, chiar şi după 12 ore de alimentaţie hipercolesterolemiantă, ea fiind completă după 48 de ore (9).

Începînd cu anul 1955, apar primele studii la om asupra acestui efect care, la animale, era deja confirmat. Taylor şi colab. (62), pe materialul biopsic recoltat intraoperator la pacienţi care anterior au urmat o dietă hipercolesterolemiantă de scurtă durată, evidenţiază scăderea colesterolosintezei hepatice. La alţi pacienţi, a căror dietă a fost normocolesterolemiantă, fenomenul nu a fost evidenţiat. Datorită anesteziei generale a pacienţilor, cît şi a perioadei „à jeun" preoperatorii, rezultatele trebuie privite cu multă prudenţă. Bhattarhiri şi Siperstein, în anul 1963 (63), evidenţiază acelaşi efect depresor al dietei hipercolesterolemiante asupra biosintezei colesterolului, dar pe material hepatic provenit de la adult şi recoltat prin puncţie-biopsie hepatică. Fujiwara şi colab., în anul 1965 (64), studiază pe ţesutul hepatic, recoltat de la copii cu ac Silverman, incorporarea acetatului marcat (C^{14}). El demonstrează scăderea sintezei hepatice a colesterolului după alimentaţia hipercolesterolemiantă.

O scădere a colesterolosintezei hepatice, cu 2/3 faţă de valorile iniţiale, este evidentă pe materialul provenit prin puncţie-biopsie hepatică şi de către Pawliger şi Shipp (65).

Mecanismul prin care colesterolul alimentar influenţează biosinteza colesterolului hepatic este explicat prin variaţia activităţii HMG-reductazei. Fenomenul a fost intuit sau demonstrat indirect, anterior (66, 68), dar numai în anul 1966 s-a reuşit evidenţierea sa directă prin determinarea cantitativă cu ajutorul cromatografiei în gaz lichid a compuşilor intermediari ai colesterolosintezei (69). Ulterior s-a demonstrat inhibiţia incorporării acetatului marcat (C^{14}) în mevalonat, în timp ce incorporarea în betahidroxi-betamil-glutaril-CoA nu este afectată (70). Blocarea primară a biosintezei colesterolului la nivelul transformării betahidroxi-betametil-glutaril-CoA în mevalonat este astfel dovedită.

Experimental, la şobolani hrăniţi hipercolesterolemiant, se evidenţiază şi un blocaj la nivelul transformării mevalonatului în farnesil-pirofosfat, şi a acestuia în scualen (68, 71). Aceste fenomene se consideră secundare blocajului primar, motiv pentru care au fost denumite blocaje secundare. Cele două tipuri de blocaje, cît şi reversibilitatea lor, depind de durata alimentaţiei hipercolesterolemiante : după 12—48 de ore se obţine blocajul primar ; după aproximativ 11 zile apare blocajul în secvenţa „mevalonat-farnesil-pirofosfat" ; iar după o alimentaţie hipercolesterolemiantă îndelungată se blochează şi transformarea farnesil-pirofosfatului în scualen (fig. I.9). Reversibilitatea spre o colesterolosinteză normală, după suprimarea dietei hipercolesterolemiante, este direct proporţională cu durata sa (24 ore — 15 zile) (72).

Scanned with OKEN Scanner

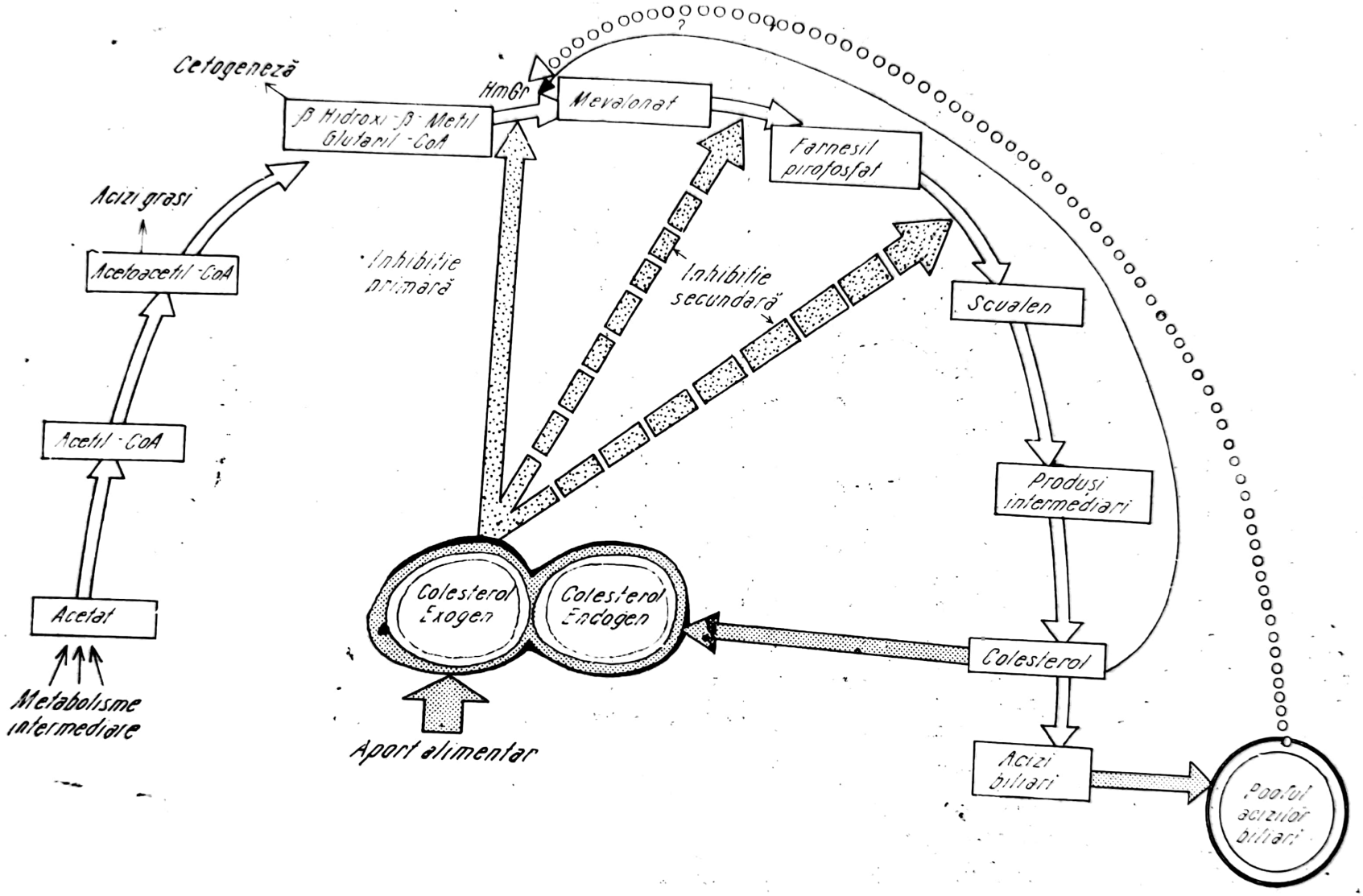


Fig. I.9. — **Principalele secvențe ale colesterolo-sintezei ;** efectul reglator al colesterolului exogen, alimentar care exercită o inhibiție primară la nivelul betahidroxibetametilglutaril-CoA-reductazei (HMG_r) și inhibiției secundară la nivelul conversiunii mevalonatului în farnesilpirofosfat și farnesilpirofosfatului în scualen. Colesterolul ca produs final de sinteză (din *pool*-ul colesterolului endogen) este incriminat ipotetic în depresia HMG_r. Acizii biliari, ca produși finali de metabolism ai colesterolului inhibă HMG în mod cert.

Scanned with OKEN Scanner

Reglarea prin foame

În tabelul I.3. se observă influenţa foamei (48—96 ore) asupra scăderii colesterolosintezei hepatice la şobolani şi maimuţă (de 11 ori la şobolani şi de 17 ori la maimuţă, comparativ cu valorile iniţiale). Fenomenul a fost evidenţiat iniţial în 1952 de către Tomkins şi Chaikoff (73), fiind confirmat ulterior şi de alţi cercetători (74—76).

Mecanismul intim, explicativ al acestui fenomen este scăderea activităţii HMG-reductazei sub influenţa foamei, blocîndu-se astfel transformarea acidului betahidroxi-betametil-glutaril-CoA-mevalonat (77).

ROLUL ACIZILOR BILIARI ŞI AL CIRCUITULUI ENTEROHEPATIC

Deşi acizii biliari, şi mai ales integritatea circuitului lor enterohepatic, au fost incriminaţi în reglarea biosintezei colesterolului încă din anul 1955 (78), etapele parcurse pînă la elucidarea rolului lor în acest mecanism au necesitat încă mulţi ani şi se poate spune că nici în prezent problema în intimitate nu este cunoscută. Pe de altă parte, studiile reglărilor biosintezei colesterolului în hepatocit şi intestin sub influenţa acizilor biliari au fost necesare nu numai ca cercetare fundamentală, dar şi ca aspect aplicativ, deoarece terapia hipocolesterolemiantă se bazează în oarecare măsură pe aceste date.

Cercetările efectuate pe maimuţă şi şobolani, care aveau fistulă biliară, evidenţiază dublarea colesterolosintezei hepatice după 48 de ore, faţă de valorile anterioare fistulizării chirurgicale (79, 80). La acestea se adaugă efectul de creştere al biosintezei hepatice a colesterolului în urma administrării de colestiramină (81).

Pentru elucidarea mecanismelor intime prin care acizii biliari influenţează colesterolosinteza hepatică au fost necesare alte experimente sau luarea în considerare a altor fapte de observaţie. Astfel, s-a constatat că *in vitro* acizii biliari purificaţi nu inhibă sinteza hepatică a colesterolului (82). Creşterea serică sau intrahepatică a acizilor biliari, în urma ligaturării căilor biliare (83, 84), produce accelerarea biosintezei colesterolului în ficat, fenomen ce nu poate fi împiedicat nici de administrarea intravenoasă a acizilor biliari. Totuşi, dacă în aceleaşi condiţii de experiment se infuzează chilomicronii (83), hipersinteza hepatică de colesterol este prevenită. Pe de altă parte, Grundy (85) demonstrează că prin creşterea pool-ului acizilor biliari, sinteza colesterolului în ficat scade. Aceste date demonstrează că acizii biliari nu influenţează direct biosinteza hepatică a colesterolului ci numai indirect, prin afectarea absorbţiei intestinale a colesterolului (9, 17). În ultimă instanţă, colesterolul din chilomicroni, absorbit pe cale hepatică, afectează sinteza hepatică a colesterolului. Mecanismul intim al acestui efect ar fi depresionarea HMG-reductazei. Astfel, acizii biliari ne apar ca reglatori ai biosintezei hepatice de colesterol „via" colesterol chilomicronic limfatic. În figura I.10. sînt redate cele două concepţii asupra reglării sintezei colesterolului în ficat prin intermediul acizilor biliari.

Un alt aspect al reglării biosintezei hepatice de colesterol este oferit de ipoteza dublului *feed-back* (86), conform căreia acizii biliari inhibă propria lor sinteză din colesterol ; acesta creşte în ficat şi va inhiba la rîndul său propria lui biosinteză. Ipoteza necesită însă confirmări.

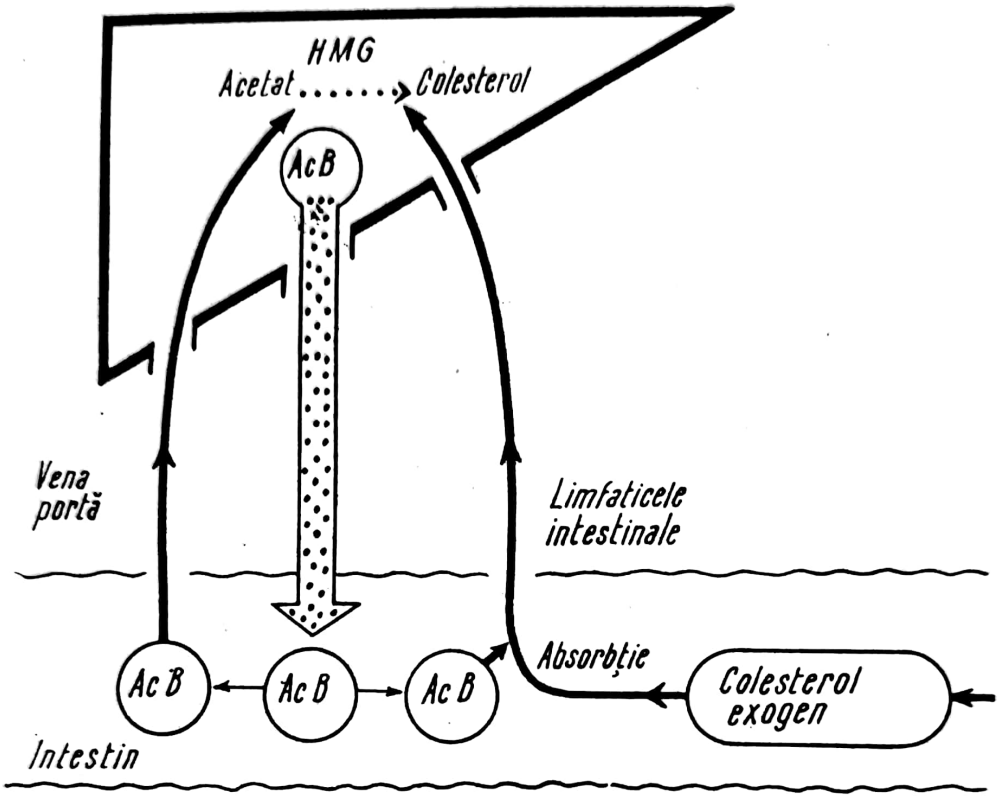


Fig. I.10. — Rolul acizilor biliari (AcB) în reglarea colesterolosintezei hepatice.

BACK (52) afirmă că echilibrul colesterolului în ficat este menţinut, în ultimă instanţă, de sinteza colesterolului şi de oxidarea sa degradativă. Ar exista deci un influx intrahepatocitar şi un eflux de colesterol datorit eliminării sale prin canaliculii biliari. Orice eflux, în absenţa sau reducerea influxului, induce hiposinteza de colesterol.

Această problemă ar putea fi clarificată prin elucidarea mecanismelor enzimatice implicate în biosinteza hepatică a colesterolului. Astfel, aşa cum s-a amintit la capitolul reglărilor intracelulare a sintezei colesterolului, s-ar putea ca acizii biliari, ca produs final al metabolismului colesterolului, să inhibe activitatea HMG-reductazei. În cazul colesterolului, ca produs final, acest lucru nu s-a dovedit (87).

b) *Reglarea colesterolosintezei în intestinul subţire*

INFLUENŢA COLESTEROLULUI ALIMENTAR ŞI AL FOAMEI

În tabelul I.3. se observă influenţa inhibatoare a alimentaţiei hipercolesterolemiante asupra biosintezei colesterolului în intestinul subţire la şobolan şi maimuţă. Aceasta este cantitativ net inferioară faţă de inhibiţia aceluiaşi proces din ficat (9). Efecte similare au fost remarcate

şi de alţi cercetători (61, 88, 89). Mai recent (90) se apreciază că o dietă hipercolesterolemiantă inhibă colesterolosinteza enterală doar cu 50% în timp ce în ficat procesul este practic suprimat.

Foamea se pare că, practic, nu afectează biosinteza enterală a colesterolului (9).

Rolul acizilor biliari şi al circuitului enterohepatic

Rolul acizilor biliari în reglarea sintezei enterale a colesterolului este important. Dietschy şi Spierstein (90) demonstrează creşterea marcantă a acestui proces în peretele intestinului subţire, după fistulizarea chirurgicală a căilor biliare. Fenomenul poate fi prevenit prin infuzia intraluminală de acizi biliari sau numai a taurocolatului. Depresia colesterolosintezei enterale, în aceste circumstanţe, este estimată chiar cantitativ, ea fiind crescută de 10 ori la şobolan şi maimuţă (90). La om, date asupra acestui proces în condiţiile fistulei biliare lipsesc (9).

Mecanismele care explică inhibiţia sintezei de colesterol în intestin, sub acţiunea acizilor biliari, sînt numai în parte cunoscute. Astfel, se admite că acest efect reglator al acizilor biliari se datoreşte concentraţiei lor intraluminale sau, în ultimă instanţă, a concentraţiei lor parietale (17). Totuşi, nu se poate exclude şi un alt mecanism, şi anume, acela al inhibiţiei colesterolosintezei enterale prin însăşi colesterol (asemănător cu procesul similar din ficat). Ar fi deci un efect secundar al acizilor biliari, explicat prin facilitarea penetraţiei şi transportului transparietal al colesterolului, prin creşterea esterificării sale, sau prin influenţarea formării complexelor colesterol-lipoproteine. Acestea ar putea avea un rol important în mecanismele *feed-back* (17).

I.2.4. SECVENŢA „OUTPUT". CATABOLISMUL ŞI ELIMINAREA COLESTEROLULUI

Secvenţa „output" a sistemului metabolic „input-output" cuprinde excreţia prin bilă şi fecale a colesterolului, cît şi catabolismul său a cărui finalitate este formarea acizilor biliari (92). În anumite circumstanţe trebuie luate în considerare şi alte posibilităţi alternative : eliminarea sa prin descuamarea epiteliului tegumentar, şi secreţia sebumului (92, 93), conversiunea spre steroidogeneză, eliminarea prin urină (94), sau participarea la gluconeogeneză (94a).

În tabelul I.4., sînt menţionate aspectele cantitative ale modalităţilor degradative ale eliminării colesterolului uman. Forma principală de

Tabelul I.4

Estimarea excreţiei sterolilor la om (după Ho şi Taylor – 6)

Fecale	– Acizi biliari	450 mg
	– steroli neutri	450 mg
Tegumente	– Sebum	100 mg
	– Descuamare	
Urină		urme

eliminare este reprezentată de sterolii neutrii sau acizii din fecale (500—1 000 mg/24 ore) ; din acestea 100 mg se reabsorb în circuitul enterohepatic (95). Tegumentele sînt o cale minoră de eliminare, iar urina practic neglijabilă (5).

A. ELIMINAREA STEROLILOR NEUTRI

Colesterolul eliminat prin fecale are 3 origini : colesterol biliar, plasmatic, sau provenit din descuamarea epiteliului intestinal ; aceste forme se găsesc intim amestecate într-un *pool* omogen în timpul procesului de digestie (12, 92). Totuşi, datorită faptului că, colesterolul biliar ajunge în intestin în formă micelară el este absorbit preferenţial, comparativ cu colesterolul alimentar care, ingerat sub forma complexelor lipidice, trebuie în prealabil supus procesului de digestie (92) aşa încît se pare că în fecale se găseşte mai degrabă colesterol alimentar şi intestinal, decît o mixtură a celor trei surse. Pînă în prezent, condiţiile tehnice nu au putut permite evaluarea cantitativă defalcată a colesterolului biliar, intestinal şi alimentar, eliminate prin materii fecale (92).

Dacă asupra modalităţilor prin care colesterolul biliar şi intestinal ajung în lumenul intestinal nu există incertitudini, apariţia colesterolului plasmatic în fecale este neexplicată pînă în prezent (92). Iniţial, s-a crezut că unica sursă de colesterol intraluminal este bila ; ulterior însă, pe lîngă sursa parietointestinală a început să intre în discuţie şi o a treia posibilitate, intuitiv denumită „endogenă extrahepatică" (92). Se postulează penetrarea intraluminală a colesterolului provenit din această sursă, prin celula intestinală. Astfel, administrarea parenterală a colesterolului —C^{14} este urmată de apariţia sa în lumenul intestinal, fie direct, fie după echilibrarea cu celulele mucoasei (96). Oricare ar fi originea, în ultimă instanţă eliminarea prin fecale a sterolilor neutrii se face sub forma coprostanolului (92), produs în urma acţiunii bacteriilor din ileon şi colon asupra colesterolului (97).

B. ELIMINAREA ACIZILOR BILIARI

Eliminarea din organism a colesterolului sub forma produşilor săi de degradare (acizii biliari) are multe implicaţii în fiziologie. Încă din anul 1943, Bloch şi colab. (citat de 92) demonstrează conversiunea colesterolului în acid colic, dar fenomenele în intimitate au fost precizate mai tîrziu. Datorită importanţei deosebite a acestei modalităţi metabolice, cît şi a acizilor biliari înşişi, vor fi expuşi sub forma unui capitol separat.

I.2.5. ACIZII BILIARI

GENERALITĂŢI

Acizii biliari umani sînt derivaţi ai acidului 5-beta-colanoic (98). În figura I.11. sînt reprezentate formulele lor chimice.

Scanned with OKEN Scanner

În prezent este demonstrat faptul că precursorul obligator necesar biosintezei acizilor biliari este colesterolul. Acizii biliari formați în ficat sînt denumiți acizi biliari primari (99), iar cei care iau naștere în intestin din acizii biliari primari, sub influența florei bacteriene, se numesc acizi biliari secundari. În condiții obișnuite, acizii biliari se conjugă cu

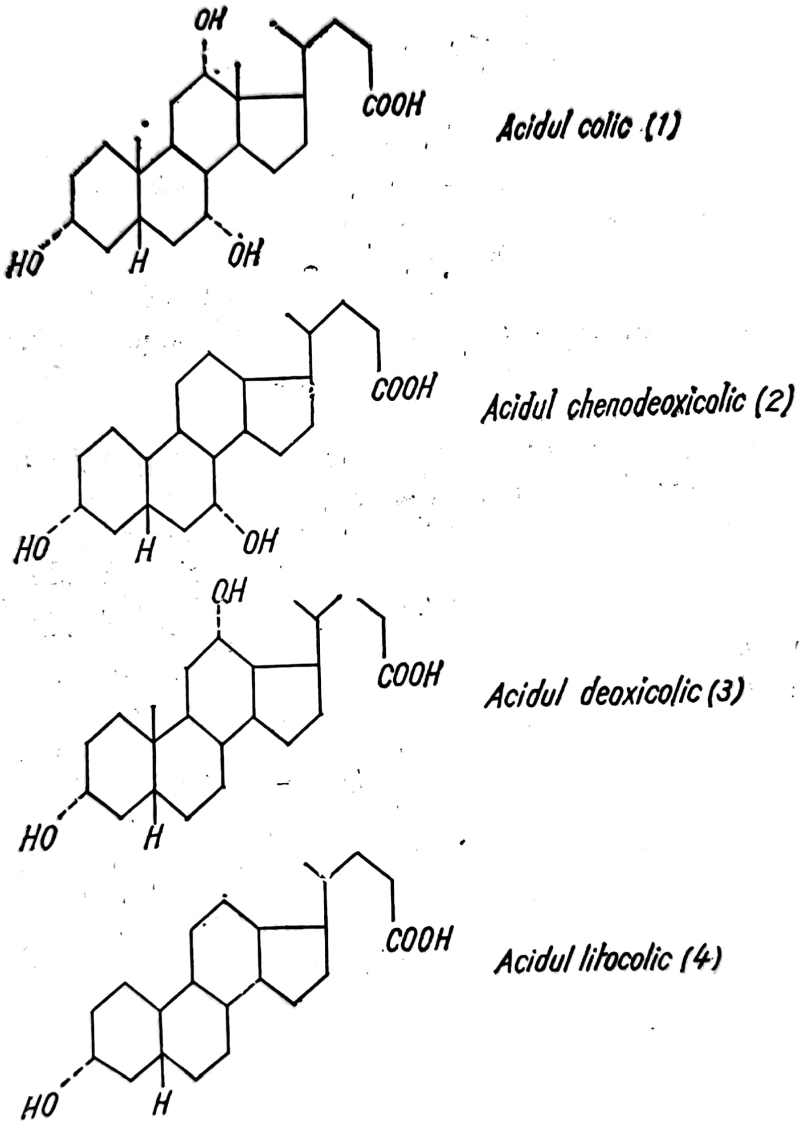


Fig. I.11. — Acizii biliari primari (I și II) și secundari (III și IV).

taurina și glicina ; unii autori au propus pentru această formă conjugată a acizilor biliari termenul de „săruri biliare" (98).

În organismul uman, cele mai importante funcții ale acizilor biliari sînt :

— emulsionarea, digestia și absorbția grăsimilor ;

— reglarea metabolismului colesterolului ;

— eliminarea renală a bilirubinei ;

— efectul bactericido-bacteriostatic, de unde rezultă acţiunea antiputrefactivă a acizilor biliari în intestin ;

— alte efecte ale acizilor biliari sînt producerea bradicardiei, hipotensiunii, accentuarea peristaltismului intestinal.

I.2.6. CINETICA ACIZILOR BILIARI ; POOL, TURNOVER, COMPARTIMENTARE

Pool-ul acizilor biliari cuprinde distribuţia lor în ficat, aparatul biliar, intestin şi circulaţia portală ; o foarte mică cantitate se găseşte însă şi în circulaţia sistemică (100). În funcţie de alimentaţie-digestie, această distribuţie suferă modificări cantitative prin (101) evacuarea bilei din vezicula biliară şi resorbţia acizilor biliari în circuitul enterohepatic, proces complex asupra căruia se va insista în capitolul următor.

Mărimea *pool*-ului, viteza şi timpul turnoverului acizilor biliari la om pot fi măsurate prin două metode : determinarea sterolilor acizi în fecale/24 ore, sau prin urmărirea curbei de dispariţie a radioactivităţii plasmatice a acizilor biliari marcaţi şi ingeraţi anterior (100). Prima metodă are însă multe dezavantaje : variabilitatea excreţiei acizilor biliari prin fecale (între 50—100 mg/zi (103—105) chiar la acelaşi subiect, dificultatea metodologiei alături de o extracţie incompletă (102).

Tabelul I.6

Estimarea principalilor parametri cinetici ai acizilor biliari (după Ho şi Taylor – 100)

Mărimea *pool*-ului	2,8 g/subiect
Timpul turnoverului	5 zile
Rata turnoverului	0,56 g/zi

Prin marcarea acizilor biliari şi urmărirea radioactivităţii plasmei, datele obţinute sînt mai corecte. În tabelul I.5 sînt redate mărimea *pool*-ului (2,8 mg/subiect), ritmul turnoverului (0,56 g/24 ore) şi timpul turnoverului (5 zile), pentru totalul acizilor biliari (90).

În condiţii bazale, repartiţia cantitativă a acizilor biliari este următoarea :

— vezicula biliară, care are o capacitate medie de 30 ml, concentrează acizi biliari în proporţie de 3,8 g%, deci 1,14 g la volumul vezicular total (106) ;

— în plasmă, concentraţia medie de acizi biliari este de 0,074 mg%, deci 0,002 g la volumul plasmatic total (101) ;

— în ficat, cantitatea totală de acizi biliari reprezintă 1,66 g ; concentraţia lor în bilă hepatică este de 0,94 g% (90), ceea ce la un volum de 1 000 cm^3/24 ore înseamnă o cantitate eliminată în intestin de 9,4 g/24 ore. Din aceasta, 0,56 g acizi biliari sînt eliminaţi prin fecale (fig. I.12).

Scanned with OKEN Scanner

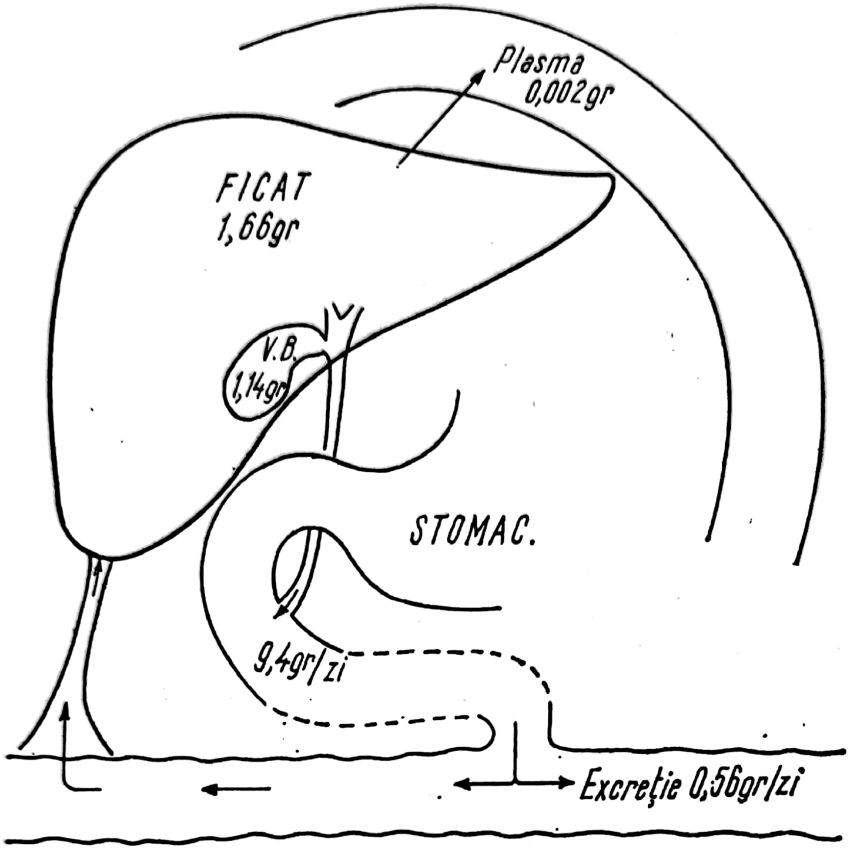


Fig. I.12. — Compartimentarea acizilor biliari ; estimare cantitativă — modificată după Ho şi Taylor, 100.

I.2.7. BIOSINTEZA ACIZILOR BILIARI

A. MECANISMELE GENERALE ALE BIOSINTEZEI ACIZILOR BILIARI

În figura I.13, sînt redate principalele secvenţe ale biosintezei acizilor biliari primari şi secundari. Etapa iniţială este reprezentată de transformarea colesterolului în colest-5-ene-3-beta, 7-alfa-diol (92, 107, 108). Acest produs intermediar este precursorul căilor de sinteză care conduc la formarea acidului colic sau a acidului chenodeoxicolic. Astfel, vor lua naştere alţi doi compuşi : 5-beta-colestan-3-alfa-7-alfa, 12-alfa-tiol şi 5-beta-colestan-3-alfa-7-alfa-diol. În urma unui proces de omega-oxidare compuşii de mai sus sînt convertiţi în colil-CoA şi chenodeoxi-colil-CoA. Ambii produşi pot fi acum conjugaţi prin intermediul legăturilor peptidice cu aminoacizii taurina şi glicina, astfel că, în final, ficatul excretă în bilă acizii taurocolic, glicocolic, taurochenodeoxicolic, glico-chenodeoxicolic. Aceştia sînt de fapt acizii biliari primari (conjugaţi) care reprezintă produsul final al catabolismului hepatic al colesterolului (92).

În ileon şi colon (92, 98) acizii biliari primari sînt supuşi acţiunii enterobacteriilor care poate acţiona prin două mecanisme :

— prin deconjugare se formează acizii colic şi chenodeoxicolic ; la om, bacteriile principale dotate cu enzime de deconjugare sînt (109, 110) stafilococul auriu, *streptococul fecalis, bacteroides, clostridia,* bifidobacteriile ;

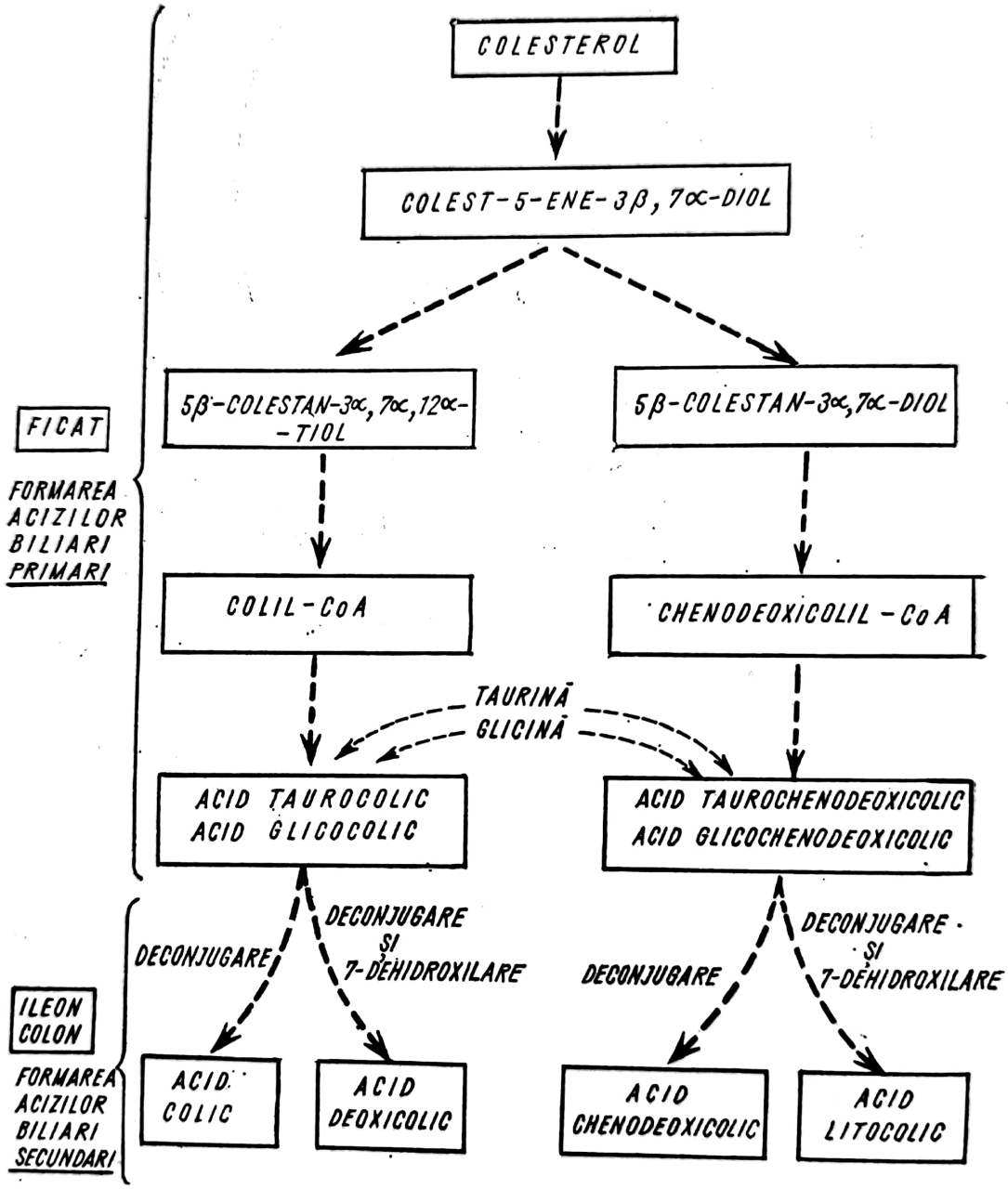


Fig. I.13. — Schema simplificată a biosintezei acizilor biliari din colesterol — modificată după Dietschy şi Wilson 92.

— prin 7-dehidroxilare se produce acidul deoxicolic şi, respectiv, acidul litocolic. Această acţiune se datoreşte activităţii 7-dehidroxilazei cu care sînt dotate numai unele specii ale bacteriilor de mai sus (92, 110).

Cei patru produşi rezultaţi din acizii biliari primari, sub acţiunea florei bacteriene enterale, se numesc acizi biliari secundari (neconjugaţi).

Datorită faptului că acizii biliari secundari, intrînd în circuitul enterohepatic, ajung din nou în ficat unde sînt conjugaţi şi apoi reexcretaţi, bila va conţine un amestec de acizi biliari primari şi secundari (92).

Biosinteza acizilor biliari din colesterol este un proces complex a cărui elucidare a fost extrem de laborioasă, fiind studiată iniţial la animale (şobolan, porc, şoarece, 98), apoi la om (111). Ea necesită un sistem enzimatic bogat, dependent de membrana microsomială. De o mare importanţă este 7-alfa-hidroxilarea colesterolului şi formarea coleste-5-ene-3-beta-7-alfa-diolului, proces enzimatic cu acţiune limitantă, motiv pentru care prezintă un rol deosebit în reglarea biosintezei acizilor biliari. Chiar şi conjugarea acizilor biliari este un mecanism complex, enzimodependent. Un alt aspect al acestui proces este legat de conjugarea acizilor biliari secundari liberi recirculaţi în cadrul circuitului enterohepatic. Aceştia ajungînd în celula hepatică sînt transformaţi în derivaţi CoA, de către o enzimă microsomială care necesită CoA, ATP, Mg^{++}. Conjugarea însăşi este catalizată de aciltransferaza lisosomială (112, 113).

B. CIRCUITUL ENTEROHEPATIC AL ACIZILOR BILIARI

Biosinteza relativ redusă a acizilor biliari din colesterol, pe de o parte, şi rolul crucial pe care îl au în absorbţia şi digestia lipidelor, pe de altă parte, a impus organismului uman şi animal un mecanism de economisire a lor. Acesta este circuitul enterohepatic, care, din punct de vedere anatomofuncţional, cuprinde două sectoare : portal şi extraportal sau limfatic (114). Fiecare moleculă de acizi biliari parcurge de 3 ori în 24 de ore un circuit enterohepatic (100).

Un moment foarte important al circuitului enterohepatic al acizilor biliari este *absorbţia lor intestinală.* În funcţie de segmentul intestinal, sînt mai multe posibilităţi de absorbţie a acizilor biliari (92, 100, 115) : transport activ sau pasiv ; acesta din urmă realizîndu-se prin difuziune pasivă ionică, neionică sau micelară (fig. I.14).

— În jejun, absorbţia se face rapid prin difuziunea pasivă neionică (pentru acizii biliari neionizaţi — dehidroxiacizi) şi mai lent prin difuziunea pasivă ionică (pentru acizii biliari ionizaţi — trihidroxiacizi).

— În ileon, absorbţia se face prin mecanisme active care depind de structura chimică a acizilor biliari (116). Viteza maximă a transportului (V_{max}) este mai mare pentru trihidroxiacizi decît pentru dihidroxiacizi. Se observă deci rolul compensator din punct de vedere absorbtiv al ileonului faţă de absorbţia deficitară a unor acizi biliari în jejun, aşa încît prin absorbţia pasivă jejunală combinată cu absorbţia activă în ileon se realizează o extracţie foarte eficientă a acizilor biliari din intestin. Într-o proporţie redusă, în ileon, acizii biliari se absorb şi prin mecanismele absorbţiei pasive micelare (115).

— Absorbţia acizilor biliari în colon se face prin difuziune pasivă probabil ionică şi neionică (117) urmînd regulile variabilităţii procesului absorbtiv condiţionat de structura chimică a compusului.

Pînă în prezent nu se cunosc date referitoare la estimarea precisă cantitativă a pool-ului acizilor biliari absorbiţi în fiecare circuit enterohepatic la fiecare segment intestinal absorbtiv (92). Totuşi, date de

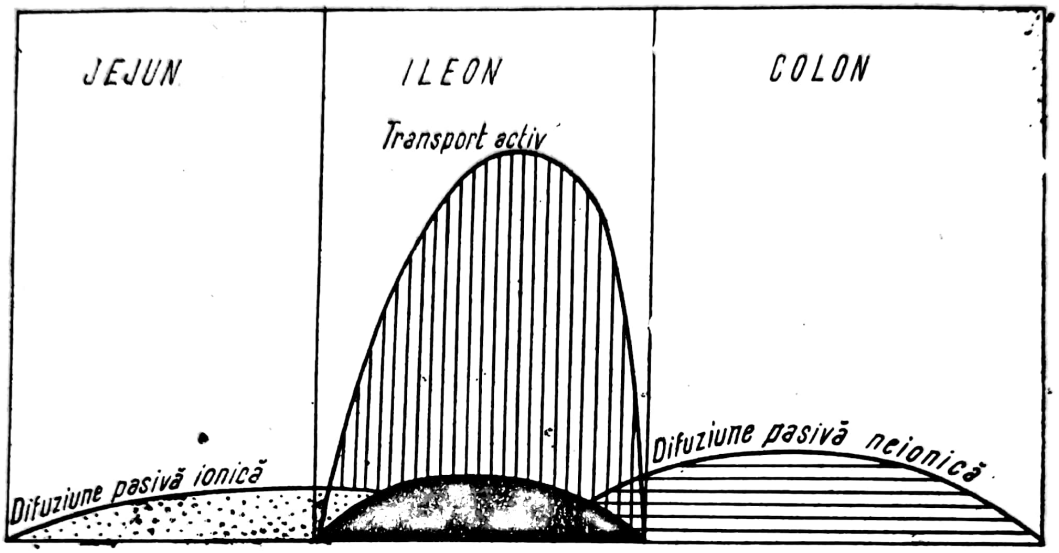


Fig. I.14. — Schema mecanismelor absorbţiei intestinale a acizilor biliari simplificată după Ho şi Taylor, 100.

fiziologie şi patologie umană sugerează ideea că ileonul prezintă o importanţă deosebită în acest proces. Aici şi în celelalte segmente intestinale, absorbţia normală a acizilor biliari este condiţionată de (92) ;

— integritatea anatomică a intestinului,
— lipsa bacteriilor deconjugante în jejun.
— *p*H-ul jejunal normal.

Orice anomalie, cum ar fi rezecţia ileală, aciditatea jejunală sau prezenţa bacteriilor deconjugante în jejun, are drept consecinţă tulburarea absorbţiei grăsimilor.

După absorbţie, acizii biliari ajung în ficat, angajaţi pe calea venei porte (99,9%) (92), transportul făcîndu-se prin legarea lor cu albumina (102). O cantitate neglijabilă (0,16%) (92) este antrenată pe calea sistemului limfatic de unde ajunge la ficat.

În ficat, prima secvenţă metabolică este constituită de transportul acizilor biliari din sinusoid în hepatocit. Din complexul acid biliar-albumină (forma de transport portal a acizilor biliari), aceştia sînt extraşi în mod foarte eficient de către celula hepatică. După penetrarea intrahepatocitară, acizii biliari neconjugaţi sînt supuşi proceselor metabolice de conjugare. S-a crezut că aceasta este o cale obligatorie, dar cercetările recente o infirmă (118—120). Nu se cunoaşte precis locul şi concentrarea acizilor biliari în hepatocit (114). Cercetări laborioase au elucidat şi mecanismul prin care acizii biliari ajung în canaliculii biliari ;

este vorba de secreţia lor prin transport activ (120, 121). Viteza şi ritmul secreţiei acizilor biliari constituie un element de mare importanţă nu numai în reglarea propriei lor sinteze, dar şi în excreţia biliară a colesterolului şi lecitinei (114). Or, de proporţia acizi biliari, colesterol neesterificat şi lecitină, depinde micelizarea sau precipitarea colesterolului (121, 122). Discuţia devine astfel tangentă cu procesul de litogeneză şi rolul jucat de ficat în inducerea lui prin secreţia aşa-zisei „bile litogenice" (114, 123). Este vorba de scăderea *pool*-ului acizilor biliari prin hiposecreţia lor hepatică, alături de creşterea eliminării biliare a colesterolului. Se postulează inducerea acestor anomalii de către tulburarea funcţionalităţii axului veziculei biliare-sfincter Oddi, şi anume hipertensiunea sau obstrucţia în tractul biliar (123—127). Chiar şi în condiţii fiziologice se constată modificări în compoziţia bilei (creşterea colesterolului şi scăderea acizilor biliari) ; astfel, bila „à jeun" este aproape superpozabilă bilei litogenice (128). Oricum, se ajunge în final la depăşirea limitelor maxime de solubilizare a colesterolului, avînd consecinţă precipitarea sa. Fenomenul, în intimitate, nu este însă cunoscut (129—131).

Privind în ansamblu circuitul enterohepatic al acizilor biliari, putem afirma că acest sistem fiziologic este important pentru organism din următoarele puncte de vedere :

— influenţează absorbţia intestinală a lipidelor, vitaminelor liposolubile şi colesterolului ; fiecare gram de acid biliar ajută la absorbţia a 50 g de grăsime (117—119) ;

— reglează sinteza acizilor biliari din colesterol şi biosinteza colesterolului din acetat, în ficat ;

— influenţează biosinteza colesterolului în intestinul subţire.

C. REGLAREA BIOSINTEZEI ACIZILOR BILIARI

Biosinteza acizilor biliari din colesterol este reglată în cadrul unui proces fiziologic complex, compus în esenţă din două mecanisme *feed-back* (81) :

— *feed-back*-ul negativ tip acid biliar-acid biliar ;

— *feed-back*-ul pozitiv tip colesterol-acid biliar.

a) *F e e d-b a c k-ul negativ tip acid biliar-acid biliar*

Controlul pe care-l exercită acizii biliari asupra propriei lor biosinteze a fost sugerat de o serie de fapte de observaţie experimentale sau din patologia umană :

— Eriksson, în anul 1957, evidenţiază creşterea de 10 ori a excreţiei de acizi biliari la şobolanii cu canulă coledociană (135) (fenomen confirmat şi de alţi autori) ;

— administrarea colestiraminei creşte atît catabolismul colesterolului, cît şi excreţia acizilor biliari (136) ;

— Grundy raportează inhibiţia biosintezei acizilor biliari la om, în urma administrării de acizi biliari (137) ;

— rezecţia ansei ileale (137, 138), prin suprimarea resorbţiei acizilor biliari, induce hiperproducţia lor, concomitent cu creşterea turnoverului colesterolului.

Explicaţia acestor fapte este însă pînă în prezent nesatisfăcătoare. Se pare că prin creşterea 7-hidroxilării în urma canulării şi deci diversificării bilei se explică o parte a fenomenelor (139, 140). Dar nici specificitatea şi nici identitatea acizilor biliari, care ar exercita acţiunea depresoare prin întreruperea circuitului enterohepatic nu se cunoaşte încă. Ar fi posibil ca acest tip de *feed-back* „acid biliar — acid biliar" să fie determinat de unele efecte secundare ale acizilor biliari (absorbţia colesterolului sau formarea chilomicronilor, 92). Tot atît de interesantă ne apare ideea conform căreia reglarea biosintezei de colesterol şi acizi biliari se află sub controlul cantităţii de colesterol, care, absorbit din intestin, ajunge în ficat (92).

b) *Feed-back-ul pozitiv tip colesterol-acizi biliari*

Acest tip de *feed-back* încă nu a putut fi demonstrat la om (141, 142). La cîine şi şobolan este însă constant. Astfel, la aceste animale, în urma dietei hipercolesterolemiante, se evidenţiază creşterea excreţiei acizilor biliari (143—145). Dacă concomitent se administrează şi tiouracil, apare o hipercolesterolemie marcată cauzată de inhibiţia biosintezei de acizi biliari (144—145). Aceasta este o dovadă elocventă că acest tip de *feed-back* reprezintă un mecanism extrem de important la unele animale, în prevenirea hipercolesterolemiei, cauzată de o alimentaţie bogată în colesterol. În sprijinul acestei afirmaţii vine şi observaţia făcută asupra iepurilor de casă, care, lipsiţi de mecanismul de mai sus, dezvoltă hipercolesterolemie, întotdeauna cînd sînt hrăniţi cu dietă hipercolesterolemiantă (142).

Întrebarea care se ridică este : de ce la om, acest mecanism nu este prezent ? Precis încă nu se poate răspunde, totuşi se poate invoca faptul că la om, comparativ cu cîinele şi şobolanul, cantitatea de colesterol absorbită este mică, ea fiind capabilă să inhibe sinteza colesterolului în ficat prevenindu-se astfel hipercolesterolemia (92).

I.2.8. REGLAREA GENERALĂ A METABOLISMULUI COLESTEROLULUI

A. METODOLOGIA STUDIERII METABOLISMULUI COLESTEROLULUI

Experimentul pe animal a stat la baza introducerii la om a metodelor de investigare a bilanţului turnoverului şi *pool*-urilor colesterolului (92). Acestea se pot efectua prin :

1) *Tehnica balanţei chimice.* Se bazează pe calcularea diferenţei dintre colesterolul alimentar ingerat şi cel eliminat prin fecale (steroli neutri + steroli acizi). Pînă la introducerea cromatografiei în gaz lichid ca metodă de determinare a produşilor de excreţie a coleste-

rolului (146), bilanţul chimic era supus unor numeroase critici. De aceea metoda prezintă importanţă deosebită numai în cazul asocierii ei cu bilanţul izotopic şi tehnica echilibrului izotopic.

2) *Bilanţul izotopic.* Principiul metodei constă în injectarea i.v. a unei singure doze de colesterol marcat, urmată de determinarea radioactivităţii în fecale (147, 148). Se explorează în special *pool*-ul colesterolului caracterizat prin schimburi rapide cu ţesuturile.

3) *Tehnica echilibrului izotopic.* Morris şi Chaikoff au preconizat această metodă (149, 150) ce se bazează pe principiul administrării unui izotop al colesterolului care să creeze un echilibru izotopic.

Combinarea celor trei metode (141 şi 143) permite estimarea mai corectă a absorbţiei colesterolului şi a excreţiei colesterolului endogen, alimentar sau a acizilor biliari. În felul acesta se elimină în oarecare măsură latura criticabilă a fiecărei metode în parte.

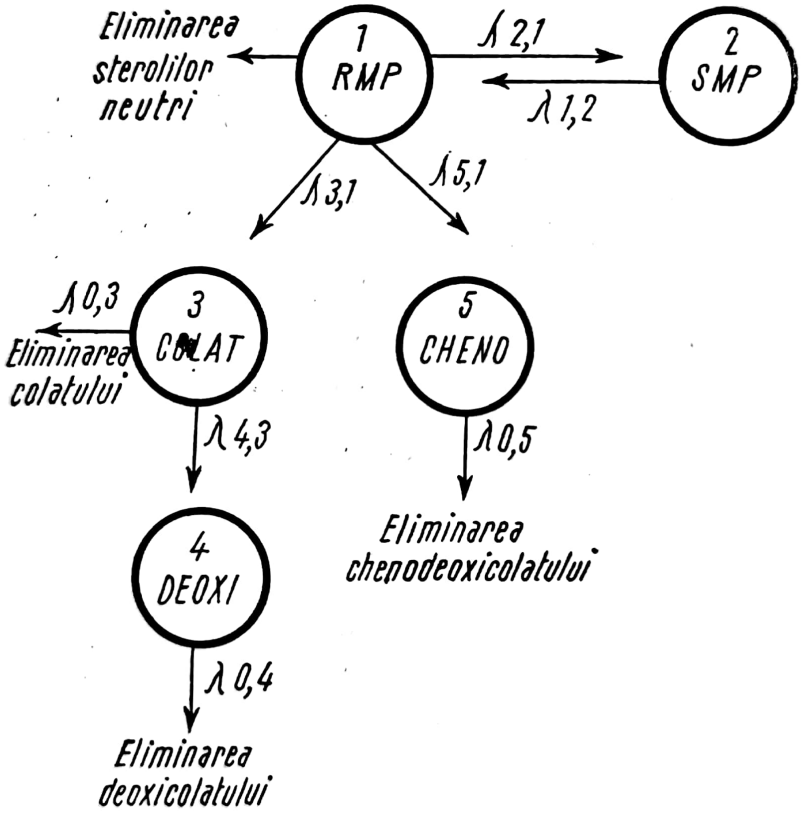


Fig. I.15. — Modelul multicompartimental propus pentru analiza cineticii colesterolului şi acizilor biliari — după Quarfordt şi colab. (151) : 1.1.1=*pool*-ul colesterolului cu schimb rapid ; (RMP : *rappidly cholesterol pool*) ; 2=*pool*-ul colesterolului cu schimb lent (SMP : *slowly miscibly cholesterol pool* ; 3=*pool*-ul acidului colic ; 4=*pool*-ul acidului deoxicolic ; 5=*pool*-ul acidului chenodeoxicolic.

Notarea parametrilor cinetici : λ 01=colesterolul eliminat sub forma sterolilor neutri ; λ 3,1=colesterolul convertit în colat ; λ 5,1=colesterolul convertit în chenoleoxicolat ; λ 2,1=colesterolul transferat de la RMS spre SMP ; λ 1,2=colesterolul transferat de la SMP la RMP ; λ 4,3=colesterolul convertit în deoxicolat , λ 0,3=colatul eliminat ; λ 0,4=deoxicolatul eliminat ; λ 0,5=chenodeoxicolatul eliminat ; ρ =viteza transportului (mg/zi) ; M=mărimea *pool*-ului în mg ; U_1 şi U_2=aportul de colesterol (secvenţa „input") în compartimentul 1 şi 2.

Astfel, recent, Quardfordt şi Greenfield (152) propun o metodă de estimare a turnoverului colesterolului şi acizilor biliari prin analiza cinetică.

Deoarece prin conceptul dublului sau triplului *pool* al colesterolului nu se avea în vedere eliminarea fracţionată a colesterolului sub forma sterolilor neutrii sau acizi, deşi aceasta era necesar, s-a încercat rezolvarea problemei printr-un model multicompartimental.

Metoda se bazează pe utilizarea colesterolului marcat (colesterol H^3, acid colic conjugat cu glicocolat de Na (24-C^{14}) şi acid colic neconjugat (24-C^{14}), care se injectează i.v. ; se urmăreşte radioactivitatea plasmei şi a bilei, timp de 3 luni în mod ritmic. În figura I.15 este redat modelul multicompartimental utilizat pentru analiza cineticii colesterolului. Quardfordt şi Greendfield propun următoarele *pool*-uri :

— *pool* caracterizat printr-un schimb rapid (RMP) (rapid miscible *pool) (Pool* 1) ;

— *pool* caracterizat printr-un schimb lent (SMP) (Slowley miscible *pool) (pool* 2) ;

— *pool*-ul acidului colic *(pool* 3), al acidului dezoxicolic *(pool* 4) şi al acidului chenodeoxicolic *(pool* 5).

Parametrii cinetici şi mărimea *pool*-urilor sînt redate în tabelele I.6, 7, 8. Remarcăm faptul că la un subiect normal, 3% din colesterolul *pool*-ului cu schimb rapid se converteşte în acid colic şi 1% se converteşte în chenodezoxicolat ; la rîndul său colatul este catabolizat de două ori mai repede decît acizii biliari dihidroxilici.

Tabelul I.6

Parametrii cineticii colesterolului şi acizilor biliari la un subiect normal ; simbolurile sînt explicate în fig. I.15 ; deviaţia standard fracţională (%) este notată în paranteză (după Quardfordt şi colab. — 151)

	Colesterol biliar	Colesterol plasmatic
$\lambda 21$	0,23 (36)	0,13 (36)
$\lambda 01$	0,034 (43)	0,016 (61)
$\lambda 31$	0,026 (17)	0,026 (18)
$\lambda 51$	0,009 (15)	0,009 (14)
$\lambda 43$	0,075 (18)	0,075 (18)
$\lambda 03$	0,35 (34)	0,50 (32)
$\lambda 04$	0,21 (21)	0,22 (21)
$\lambda 05$	0,20 (22)	0,25 (21)
	mg sau mg/zi	
M_1	15,873 (21)	20,661 (15)
M_3	1,235 (16)	1,235 (16)
M_4	446 (24)	446 (24)
M_5	943 (19)	943 (19)
$\rho 01$	540 (49)	331 (64)
$\rho 31$	413 (27)	537 (24)
$\rho 51$	144 (26)	176 (21)
$\rho 43$	93 (24)	93 (24)
$\rho 03$	432 (39)	618 (36)

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul I.7

Estimarea constantelor cineticii colesterolului şi acizilor biliari la un subiect normal; simbolurile sînt explicate în figura 1.15; deviaţia standard fracţională este notată în paranteză (după Quarfordt şi colab., 151)

λ 21	λ 12	λ 01	λ 31	λ 51	λ 0	λ 05	λ 43	λ 04
0,23 (19)	0,11 (19)	0,034 (43)	0,026 (17)	0,029 (15)	0,35 (34)	0,20 (22)	0,075 (18)	0,21(21

Tabelul I.8

Mărimea pool-ului şi fluxului colesterolului şi a acizilor biliari la un subiect normal; explicarea simbolurilor se află în figura I.15; iar în paranteză este notată deviaţia standard fracţională (după Quarfordt şi colab., 151)

M_1	M_2	M_4	M_5	ρ21	ρ01	ρ31	ρ51	ρ43	ρ03	ρ04	ρ05
		mg				mg/zi				mg/zi	
15,873 (21)	1,235 (16)	446 (24)	943 (19)	3,651 (29)	540 (49)	413 (27)	144 (26)	93 (24)	432 (38)	94 (32)	189 (29)

Modelul multicompartimental va fi de un real folos în studiul stărilor hiperlipidemice.

B. REGLAREA METABOLISMULUI COLESTEROLULUI; POOL-UL ANA- ŞI CATABOLIC AL COLESTEROLULUI

Reglarea de ansamblu a metabolismului colesterolului presupune de la început mecanismele deja amintite ale fiecărei etape din secvenţele „input" sau „output", la care se adaugă cele hormonale şi nervoase. Acestea din urmă, împreună cu influenţarea medicamentoasă a metabolismului colesterolului şi în general a metabolismului lipidic şi LP vor fi expuse în capitolele III şi X.

În continuare, urmînd sistematizarea lui Dietschy şi Wilson, vom sintetiza mecanismele reglatoare ale metabolismului colesterolului (fig. I.16) (92).

Amestecul de colesterol alimentar şi endogen din lumenul intestinal este absorbit sub forma miceliilor mixte şi, împreună cu colesterolul sintetizat în pereţii intestinului subţire, participă la formarea VLDL şi chilomicronilor, formă sub care este vehiculat spre ficat. Se presupune un regim diferenţiat de transport pentru colesterol exo- şi endogen. În ficat, colesterolul absorbit, împreună cu colesterolul endogen, se poate distribui pe trei căi metabolice: excreţia în bilă, degradarea şi formarea acizilor biliari. Schimbul cu colesterolul seric (*pool*-ul colesterolului extrahepatic). Acizii biliari eliminaţi în bilă au acţiuni importante asupra micelizării colesterolului, sintezei parietale a colesterolului în intestin şi ritmului formării chilomicronilor.

În concepţia lui Dietschy şi Wilson (92) în reglarea metabolismului colesterolului intervin următoarele *feed-back*-uri :

— *Reglarea biosintezei colesterolului în ficat* are loc sub controlul colesterolului absorbit, acesta la rîndul său fiind determinat de cantitatea de colesterol alimentar, de LP disponibile ca transportori şi mai ales de acţiunea acizilor biliari care au rol decisiv în absorbţia sterolică.

— *Reglarea biosintezei colesterolului în intestin* se produce tot sub influenţa acizilor biliari, deşi mecanismul intim nu se cunoaşte (acţiune

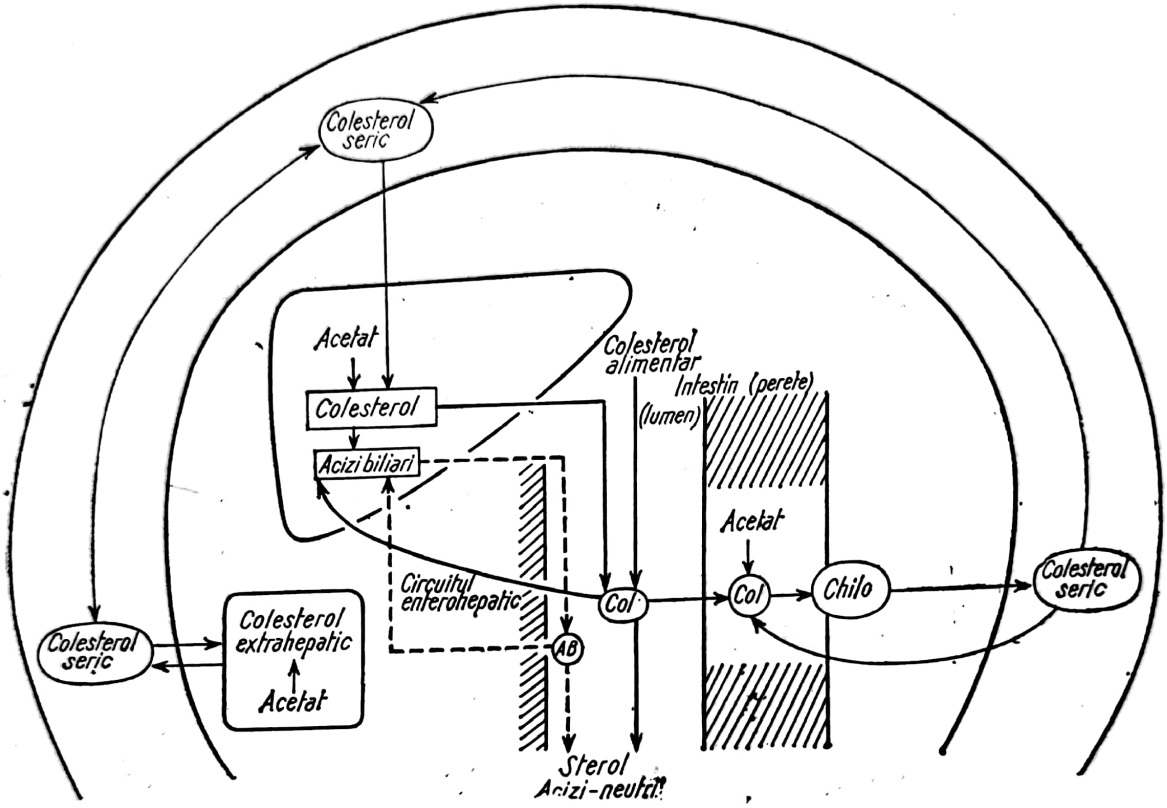


Fig. I.16. — **Reglarea de ansamblu a metabolismului colesterolului (col.=colesterol ; chilo=chilomicroni ; AB=acizi biliari).**

directă sau indirectă, prin facilitarea penetraţiei colesterolului în mucoasă).

— *Reglarea biosintezei acizilor biliari de către colesterol.* Acesta este un mecanism *feed-back* foarte important la animale, dar nedemonstrat la om, deşi utilitatea sa în prevenirea hipercolesterolemiilor consecutive aportului abuziv de colesterol exogen ar fi extraordinară.

— *Reglarea biosintezei acizilor biliari de către acizii biliari.* Nu se ştie dacă acest tip de *feed-back* se datoreşte acţiunii primare sau secundare a acizilor biliari.

În ultimă instanţă aceste mecanisme menţin homeostazia colesterolului uman sau animal în sensul că orice acţiune care scade colesterolul sau acizii biliari în corp, are drept consecinţă creşterea sintezei lor. Este valabil şi fenomenul invers : expansiunea *pool*-ului colesterolului inhibă propria sa sinteză, concomitent cu inducerea catabolismului său şi producerea de acizi biliari, cu alte cuvinte, orice tendinţă de exacerbare a secvenţei „input" induce exacerbarea secvenţei „output".

Scanned with OKEN Scanner

Conceptul sistemului „input-output" aplicat la metabolismul colesterolului uman sau animal nu este perfect, de aceea încercările de integrare teoretică a etapelor metabolismului colesterolului, vizînd în ultimă instanţă colesterolul parieto-arterial şi/sau terapia hipocolesterolemiantă, sînt mereu actuale. În anul 1973, Sodhi şi Kudchodkar (152), bazaţi pe o suită de cercetări anterioare cu o adresabilitate polisecvenţială vizînd metabolismul colesterolului (153—159), propun într-o reuşită sinteză „Teoria *pool*-ului anabolic şi catabolic al colesterolului".

„Pool-ul anabolic" al colesterolului este format de colesterolul sintetizat în ficat împreună cu colesterolul absorbit în intestin şi care, pe calea chilomicronilor, ajunge la ficat. Colesterolul din *pool*-ul anabolic participă la formarea LP, VLDL, HDL, LDL în hepatocit, formă sub care este vehiculat spre ţesuturi.

„*Pool*-ul catabolic al colesterolului" este alcătuit din colesterol provenit din catabolismul LP, la care se adaugă colesterol mobilizat din ţesuturi, acesta este transportat în ficat, de unde este eliminat sub forma sterolilor acizi şi neutri.

Remarcăm deci că, colesterolul din *pool*-ul catabolic nu este reutilizat pentru sinteza LP. Trebuie precizată şi modalitatea în care colesterolul tisular răspunde la orice scădere a colesterolului plasmatic. Prompt are loc o mobilizare a colesterolului tisular care este transportat sub forma LP la ficat pentru excreţia în bilă. Este vorba deci de un echilibru dinamic între colesterolul plasmatic şi tisular. Acest concept este în perfectă concordanţă şi cu acţiunea mecanismului *feed-back* pozitiv sau negativ din secvenţa „input" sau „output". Astfel, ritmul colesterolului şi sintezei hepatice depinde pe de o parte de colesterolul absorbit şi captat de ficat, iar pe de altă parte de ritmul sintezei LP. Dacă absorbţia colesterolului rămîne fixă, creşterea sintezei de LP se însoţeşte de creşterea sintezei hepatice a colesterolului ; creşterea absorbţiei colesterolului are drept consecinţă scăderea colesterolului sintezei hepatice.

C. SISTEMUL „INPUT-OUTPUT" ŞI COLESTEROLEMIA

În ultimă instanţă, colesterolemia rămîne parametrul destul de fidel care reflectă homeostazia acestui sterol în organism. Figura I.17 prezintă schematic sursele colesterolului seric. Problema majoră care se ridică este preponderenţa valorică a diferitelor surse, în detrimentul colesterolului seric. Ea a fost elucidată graţie experimentelor pe şobolan (160), cîine (161), şi maimuţă (162). Se constată astfel că, colesterolul endogen şi colesterolul exogen participă în grade diferite la determinarea colesterolemiei. La om, cercetările lui Kaplan (13) demonstrează că 25% din colesterolul seric este de origine alimentară, în care dieta conţine aproximativ 0,5 g colesterol/zi. Rezultatele lui Mattson şi colab. (163) evidenţiază importanţa colesterolului alimentar în determinarea colesterolului seric (fiecare 100 mg colesterol/1 000 calorii alimentare determină o creştere a colesterolului seric cu 12 mg%).

Este evident deci faptul că la om, preponderenţa colesterolului seric este de origine endogenă în cazul unei alimentaţii cu conţinut normal

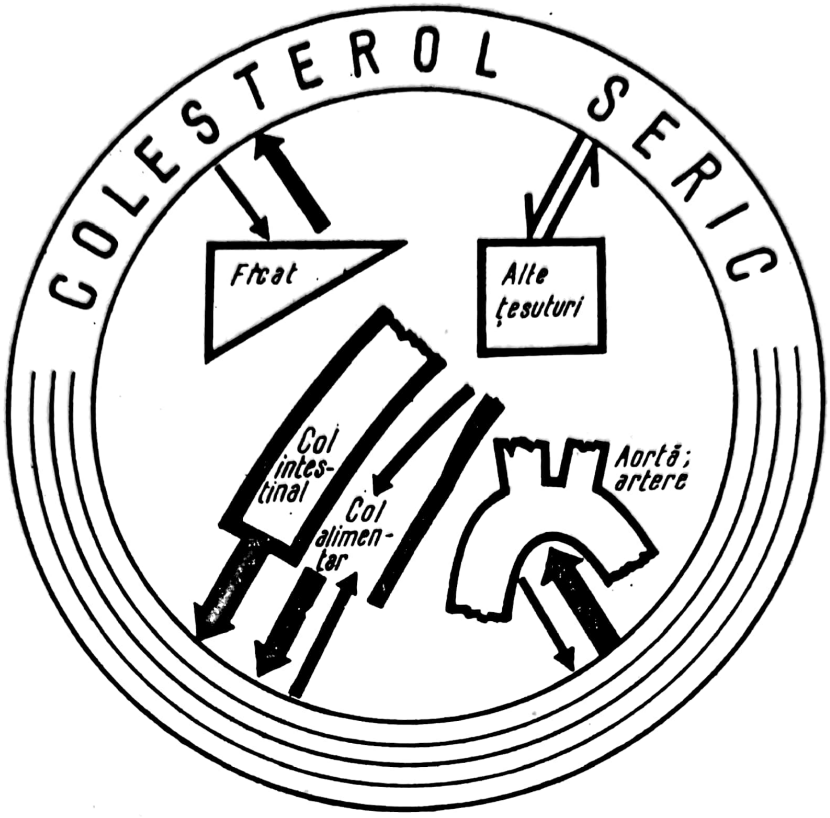


Fig. I.17. — Sursele colesterolului seric. Participare inegală a diferitelor țesuturi și organe la determinismul colesterolemiei. Schimbul dintre colesterolul tisular și cel seric este inegal.

în colesterol. Aceasta presupune în primul rînd colesterolosinteza hepatică, intestinală și din alte organe, dar și schimbul colesterol plasmatic — colesterol tisular. Totuși rolul acestui mecanism în homeostazia colesterolului la om este redus. Din nefericire, în organismul uman dinamica schimbului colesterol plasmatic ⇄ colesterol tisular nu este egală în cele două sensuri, nici ca mărime globală, nici ca teritorializare tisulară.

Deși nu se poate face, deocamdată, o estimare cantitativă a procesului de reversibilitate tisulară globală sau specifică a colesterolului uman, se intuiește că există o preponderență a infiltrației tisulare a colesterolului comparativ cu mobilizarea sa. Fenomenul este deosebit de important în special la nivelul arterelor fiind în relație directă cu aterogeneza.

REZUMAT

Colesterolul este un derivat izoprenic important pentru organismul uman, întrucît reprezintă un element structural al membranelor celulare și al lipoproteinelor, cît și datorită faptului că este un precursor al hormonilor steroizi, acizilor și sărurilor biliare.

În organismul uman există trei *pool*-uri de colesterol (cu ritm rapid, ritm lent de schimb, sau practic fix). În metabolismul coleste-

rolului deosebim o secvenţă „input", care se referă la absorbţia şi sinteza sa şi o secvenţă „output", care cuprinde eliminarea şi degradarea colesterolului. Fiecare secvenţă recunoaşte mecanisme de reglare atît neurohormonale, cît şi intracelulare, în corelaţie cu metabolismul lipoproteinelor.

Acizii biliari îndeplinesc în organism funcţii importante legate de digestia şi absorbţia lipidelor, cît şi de reglarea metabolismului colesterolului, care se realizează prin mecanisme de tip *feed-back.*

I.3. ACIZII GRAŞI ŞI TRIGLICERIDELE

I.3.1. ACIZII GRAŞI

GENERALITĂŢI

Acizii graşi intră în compoziţia tuturor tipurilor de lipide umane, animale sau vegetale. Ei formează obiectul acestui capitol împreună cu trigliceridele, care sînt de fapt esteri ai glicerolului cu acizii graşi (AG cu lanţ lung — grăsimi neutre). Dezbaterea lor simultană este justificată şi de interrelaţiile metabolice existente între ei.

AG pot fi consideraţi, din punct de vedere chimic, ca hidraţi de carbon la care gruparea metil este înlocuită cu o grupare carboxil. Rezultă astfel compuşi liniari cu un număr diferit de atomi de carbon care formează lanţuri cu o lungime variabilă (1). În funcţie de prezenţa dublei legături, AG pot fi saturaţi sau nesaturaţi.

AG saturaţi sînt denumiţi, din punct de vedere chimic (1), prin înlocuirea terminaţiei „e" a hidrocarbonatului respectiv cu sufixul „oic" („anoic"). De exemplu : octadecanul $-CH_3-(CH_2)16-CH_3$ devine acid octadecanoic ($CH_3-(CH_2)16-COOH$).

În cazul acizilor graşi nesaturaţi, sufixul „anoic" se înlocuieşte cu sufixul „enoic" care este la rîndul său precedat de o precizare în funcţie de numărul dublelor legături : dienoic, trienoic, tetraenoic etc. Astfel, un AG cu 18 atomi de carbon şi o dublă legătură se numeşte acid octadecenoic. În eventualitatea prezenţei a două duble legături, acidul gras devine octadecadienoic. Poziţia dublelor legături este indicată fie prin simpla notare a cifrelor (acid 9,12 octadecadienoic), fie prin simbolul Δ 9,12. Numărătoarea atomilor de carbon în lanţ se face începînd cu carbonul de care este legată gruparea carboxil. Deşi denumirea chimică a AG este deosebit de explicită, se utilizează paralel şi denumirea clasică (acid oleic, linoleic, palmitic etc.).

Formula generală a AG nesaturaţi este $CnH_2n+1-COOH$. Prin introducerea unei duble legături se pierd doi atomi de hidrogen. În acest caz AG nesaturaţi cu o dublă legătură au următoarea formulă generală : $CnH_2n-1-COOH$, iar cei cu două duble legături : CnH_2n-3.

Aproape toţi AG nesaturaţi din organismul omului sînt în configuraţia „cis". În tabelul I.9. sînt reprezentaţi principalii AG din lipidele umane, animale şi vegetale. Tabelul I.10 reprezintă AG din ţesutul adipos al omului.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul I.9

Principalii acizi graşi întîlniţi în grăsimile umane, animale sau vegetale (după Manta – 2)

Nr. de C	Denumirea clasică Acid....	Numele chimic Acid....	Răspîndire
		Acizi graşi saturaţi	
C_4	Butiric	Butanoic	Unt
C_6	Caproic	Hexanoic	
C_8	Caprilic	Octanoic	Ulei de cocos
C_{10}	Capric	Decanoic	Grăsimi animale
C_{12}	Lauric	Dodecanoic	Lapte
C_{14}	Miristic	Tetradecanoic	
C_{16}	Palmitic	Hexadecanoic	Grăsimi animale
C_{18}	Stearic	Octadecanoic	
C_{20}	Arachidic	Eicosanoic	Ulei de nucă
C_{22}	Cehenic	Docosanoic	Ulei de peşte
C_{24}	Lignoceric	Tetracosanoic	Cerebrozide
		Acizi graşi nesaturaţi — monoetenici	
C_{16}	Palmitoleic	Δ_9 Xenodecenoic	Lapte, peşte
C_{18}	Oleic	Δ_9 Octadecenoic (cis)	Grăsimi animale şi vegetale
C_{20}	Gadoleic	Δ_9 Eicosenoic	Untură de peşte
C_{22}	Nervonic	Δ_{15} Tetracosenoic	Cerebrozide
		Acizi graşi nesaturaţi polietenici	
C_{18}	Linoleic	$\Delta_{9,12}$ Octadecadienoic	Grăsimi vegetale
C_{18}	Linoleinic	$\Delta_{9,12,15}$ Octadecatrienoic	Grăsimi vegetale
C_{20}	Arahidonic	$\Delta_{5,8,11,14}$ Eicosatetraenoic	Fosfolipide
C_{22}	Clupanodonic	$\Delta_{4,8,12,15,15}$ Docasapentoic	Ulei de peşte
		Acizi graşi hidroxilaţi	
C_{24}	Cerebronic	Oxi-4-tetracosanoic	Cerebroside
C_{24}	Oxinervonic	Oxi-15-tetracosanoic	Cerebroside

În organismul uman AG se găsesc sub două forme principale: esterificată şi neesterificată :

Tabelul I.10

Principalii acizi graşi constituenţi ai grăsimii umane (după Gramer şi Brown, citat de 3) (pentru detalii a se vedea şi tabelele 1.18 şi 1.19)

Denumirea acidului gras	%	Denumirea acidului gras	%
Lauric	0,9	Hexacedenoic	7,6
Miristic	3,9	Oleic	46,6
Palmitic	25,7	Linoleic	8,7
Stearic	5,2	Arachidonic	0,6
Tetradecenoic	0,5	Alţi acizi graşi cu C_{20}	0,3

— AG esterificaţi intră în componenţa TG, fosfolipidelor, esterilor de colesterol, care împreună cu apoproteinele formează lipoproteinele.

— AG neesterificaţi provin din hidroliza TG adipocitare sau a lipo-

proteinelor plasmatice. Se mai numesc AGL (acizi graşi liberi), FFA (free fatty acids), NEFA (nonesterified fatty acids).

Ambele forme de AG îndeplinesc în organism funcţii importante :

— Rol energetic care, comparativ cu glucidele şi proteinele, este covîrşitor.

— Rol plastic, prin participarea la structura membranei celulare şi mitocondriale. Aici vom aminti acizii graşi esenţiali (linoleic, arahidonic) care nu pot fi sintetizaţi în organism, motiv pentru care prezenţa lor în alimentaţie este obligatorie. Carenţa în acizi graşi esenţiali la animale are drept consecinţă tulburări trofice tegumentare, tulburări de creştere şi leziuni renale (1).

— O altă funcţie importantă a AG este legată de posibilitatea inducerii sau prevenirii hipercolesterolemiilor şi a aterosclerozei.

Începînd cu anul 1956, se acordă o importanţă deosebită AGL plasmatici. În acest an, trei echipe de cercetători — Dole şi colab. (4), Gordon şi colab. (5) şi Laurell şi colab. (6) — comunică primele observaţii atît asupra metodei de determinare rapidă a AGL (2), cît şi a variaţiei lor în cursul foamei, după ingerarea glucozei sau administrarea catecolaminelor. Aceste studii de pionerat, care subliniază pentru prima dată rolul esenţial jucat de AGL în energogeneză, sînt urmate de o adevărată explozie de cercetări în domeniul respectiv. Acesta este motivul pentru care o mare parte din materialul nostru se va referi la AGL.

I.3.2. CINETICA ACIZILOR GRAŞI LIBERI

A. DINAMICA ACIZILOR GRAŞI

AG în organismul uman, în special AGL sînt compuşi energogeni de importanţă majoră. Ei sînt distribuiţi în multiple *pool*-uri între care are loc un schimb permanent şi rapid, graţie unui turnover foarte accelerat. Dinamica generală a AG presupune (8, 9, 10) :

— eliberarea AGL din organele de sinteză şi/sau depozitare, sau din TG lipoproteinelor plasmatice ;

— transportul lor predominant plasmatic spre organele metabolizante ;

— captarea AGL de către aceste organe ;

— metabolizarea AGL în sens catabolizant energogen, sau în sens plastic anabolizant.

În figura I.18. este redat în mod cu totul schematic conceptul dinamicii AG : eliberarea (secvenţa 1) şi metabolizarea lor (secvenţa 4) sînt procese complexe care vor fi tratate în alte capitole. Transportul (secvenţa 2) şi captarea AGL (secvenţa 3), formează obiectul acestui capitol. Sînt necesare totuşi unele precizări preliminare. Dinamica acestor procese, deşi preponderentă ca intensitate spre un anumit sens, nu exclude reciprocitatea lor ; eliberarea şi captarea AGL sînt diferenţiate topografic (eliberarea este preponderentă din ţesutul adipos, în timp ce cap-

Scanned with OKEN Scanner

tarea este accentuată în ficat şi ţesutul muscular). Procesele biochimice de la nivelul principalelor organe metabolizante ale AG se referă la : sinteza, esterificarea AG, lipoliza şi eliberarea AGL, participarea AGL la sinteza principalelor lipide şi lipoproteine şi, în sfîrşit, catabolizarea lor energogenă. Aceste procese sînt prezente concomitent în unele organe

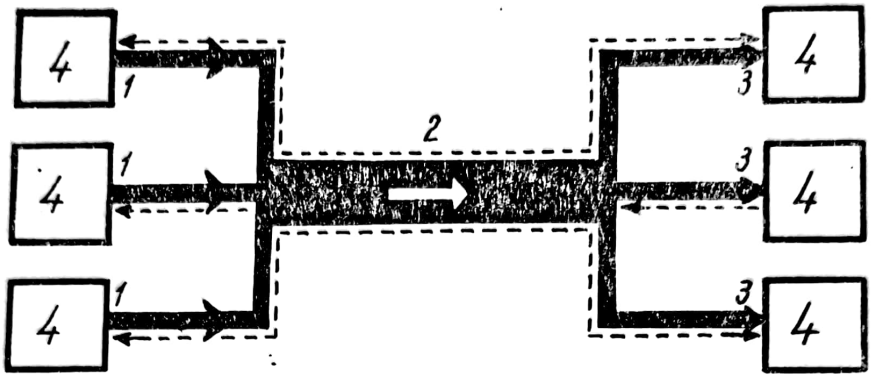


Fig. I.18. — Dinamica generală a acizilor graşi în organismul uman. Secvenţa 1=eliberarea AGL din organele de sinteză şi depozitare, în special ţesutul adipos ; secvenţa 2=transportul predominant plasmatic a AGL ; secvenţa 3=captarea AGL de către organele metabolizante (în special ficat, ţesut muscular şi ţesut adipos) ; secvenţa 4=metabolizarea acizilor graşi ; sinteza şi esterificarea, catabolizarea energogenă, participarea la sinteza principalelor lipide şi lipoproteine umane. Aceste procese pot fi întîlnite concomitent în acelaşi organ, dar preponderenţa intensităţii lor variază în funcţie de necesităţile fiziologice (în special energogene).

(ficat, ţesut adipos), dar preponderenţa intensităţii lor variază în funcţie de necesităţile energogene.

B. TRANSPORTUL PLASMATIC AL ACIZILOR GRAŞI LIBERI

Sursa AGL plasmatici este reprezentată de TG din ţesutul adipos şi lipoproteinele circulante. Ficatul, ca sursă de AGL (9), este controversat, deoarece sînt autori care nu confirmă acest lucru (24). Transportul lor plasmatic se face în trei moduri : AGL legaţi de albumină, AGL legaţi de lipoproteine şi AGL nelegaţi.

TRANSPORTUL AGL LEGAŢI DE ALBUMINĂ

Complexul AGL-albumină reprezintă forma majoră de transport al AGL (9), fapt sugerat încă în 1941 de către Kendall (citat de 9), şi apoi demonstrat de către Cohn în 1947 (citat de 9). Între 1953—1954, Gordon (citat de 9), Nikilla (citat de 9) demonstrează că activitatea lipoproteinlipazei este prezentă numai în prezenţa albuminei, precum şi faptul că albumina este unicul component plasmatic capabil de a lega acidul oleic într-o soluţie.

Mecanismele intime ale legăturii AGL-albumină nu sînt încă descifrate în întregime ; se cunosc însă unele ipoteze :

— pentru acizii al căror lanţ variază între 4 şi 10 atomi de carbon, Teresi şi Luck (11), utilizînd metoda dializei de echilibru, propun două

clase de legături în funcţie de capacitatea fiecărei molecule de albumină de a fixa AG. Fiecare moleculă de albumină este dotată cu mai multe locuri în care se pot lega AGL, legăturile fiind prin forţe electrostatice sau de tip nepolar ;

— Goodman (12) precizează că este vorba de trei clase de legătur între AGL şi albumină în funcţie de acelaşi parametru folosit d Teresi şi Luck. Astfel, în cazul primei clase o moleculă de albumin este dotată cu două puncte de legătură, în cea de a doua clasă c 5 puncte de legătură şi în cea de a treia clasă cu 20 de puncte d legătură.

— Spector (13), analizînd capacitatea de legare a AG de către albumina umană, presupune că în molecula de albumină există tr puncte de legături primare, trei puncte de legături secundare şi 63 punc de legături terţiare.

O abordare exhaustivă a legăturilor dintre AGL-albumină este efe tuată de către Arvidson (14) şi Csögör (15).

TRANSPORTUL AGL LEGAŢI DE LIPOPROTEINE

Gordon, în anul 1955, aduce primele dovezi asupra legăturii AG şi lipoproteine prin demonstrarea creşterii mobilităţii electroforetice beta-lipoproteinelor în urma adaosului de oleat (citat de 9), Goodman şi Shafrir (16), studiind legătura acizilor graşi cu 5 atomi de carbo (lauric, palmitic, stearic, oleic, linoleic) cu lipoproteinele, afirmă că fixarea lor se face în două moduri :

— un prim tip caracterizat prin prezenţa a patru puncte de leg tură la nivelul fiecărei molecule lipoproteice ;

— un al doilea tip caracterizat prin dotarea unei molecule lip proteice cu un număr foarte mare de puncte de legătură (pînă la 150

În primul caz, este vorba de interacţiunea grupării carboxil c apoproteinele din lipoproteine, pe cînd în cel de al doilea caz, de solu bilizarea lanţului hidrocarbonat în fracţia lipidică a lipoproteinei.

Transportul AGL legat de lipoproteine reprezintă numai 1% d totalul AGL transportaţi pe cale plasmatică.

TRANSPORTUL AGL NELEGAŢI

Concentraţia AGL în formă nelegată este extrem de joasă. Aces mod de existenţă a AGL în plasmă este posibil la un *p*H fiziologic numai sub forma anionilor acilcarboxilici (17). Explicaţia apariţiei lo în plasmă rezultă din faptul că, complexul AGL-albumină este rever sibil, AGL legaţi şi nelegaţi fiind în echilibru, conform legii acţiun maselor.

Spector (17) postulează ideea că AGL nelegaţi, reprezintă unicul *pool* al AGL extracelular care vin în contact cu celula la nivelul membranei sale. Conform acestei ipoteze transportul „în“ şi „din“ celulă

a AGL se face numai sub forma AGL nelegaţi. O confirmare a acestei presupuneri ar atribui un rol fiziologic deosebit acestei forme de prezentare a AGL.

C. CAPTAREA ACIZILOR GRAŞI LIBERI DE CĂTRE CELULE ŞI ŢESUTURI

Turnoverul foarte rapid al AGL plasmatici presupune pe lîngă mulţi alţi factori şi existenţa unor mecanisme eficiente de transfer a AGL din *pool*-ul extracelular în *pool*-ul intracelular. Se comentează încă în literatură, dar netranşant, cele două ipoteze asupra mecanismelor de transport a AGL în celulă :

— ipoteza lui Spector (17) deja amintită se bazează pe existenţa anionilor AGL nelegaţi (disociaţi de albumină) la nivelul membranei celulare ; sub această formă ei pătrund în celulă, unde după fixarea pe o apoenzimă, probabil acil-tiokinaza, urmează căile metabolice cunoscute (fig. I.19) ;

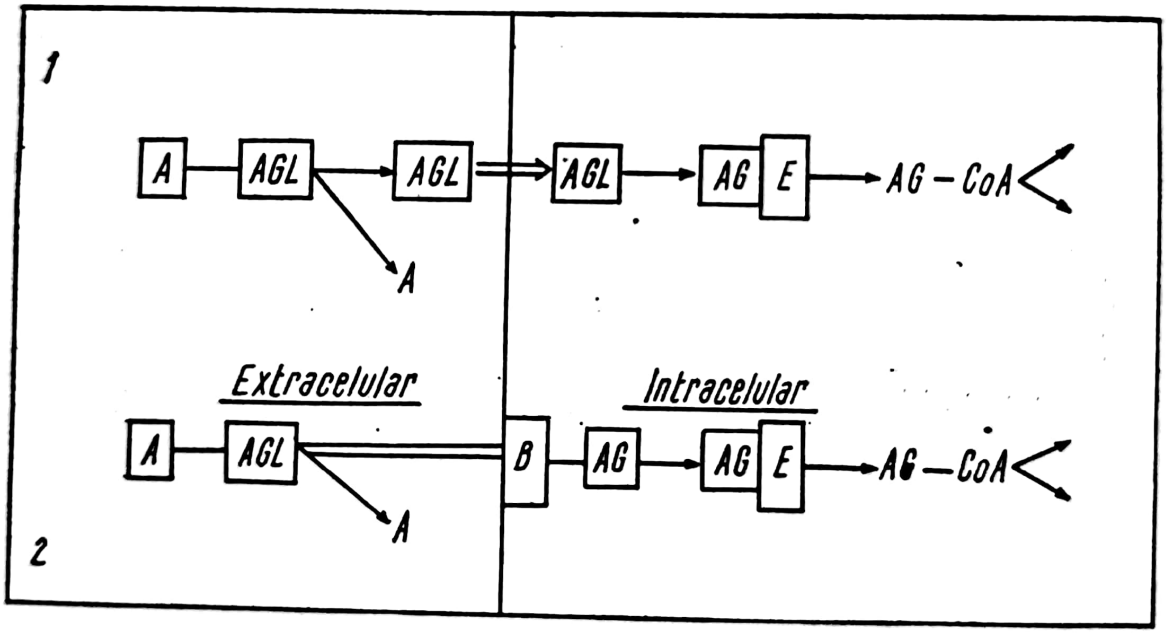


Fig. I.19. — Mecanisme ipotetice ale transportului transmembranar al acizilor graşi.
A=albumină ; AGL=acizi graşi liberi, neesterificaţi ; E=apoenzimă (acilthiochinaza) ; B=transportor intracelular (lipoproteine ?) — după Nikkila, 9.

— a doua ipoteză (9) admite disociaţia AGL din complexul cu albumina, după care la nivel membranar se vor lega imediat de un transportor intracelular (lipoproteină ?) ; ulterior AG se unesc cu apoenzima acil-tiokinază intrînd în căile metabolice necesare.

Cercetări asupra mecanismelor de transport transmembranar al AGL au fost efectuate asupra eritrocitelor (18) şi a celulelor din ascita tumorii Erlich la şoarece (17). Deşi metodele experimentale au fost deosebit de ingenioase, încă nu s-au elucidat aspectele intime al transportului, în special sub raport energetic. Se pare totuşi că este vorba de un proces de absorbţie rapidă nemetabolică.

CAPTAREA AGL DE CĂTRE FICAT

Captarea AGL de către ficat este un proces deosebit de eficient. Martore ale acestei afirmaţii stau unele fapte experimentale. Astfel, la 5—10 secunde după injecţia intraportală a AGL marcaţi se evidenţiază radioactivitate în trigliceridele şi fosfolipidele din hepatocit (19). În acelaşi sens, se înscriu şi concluziile lui Fine şi Williams (20), care demonstrează că 30—40% din complexul marcat AGL-albumină care perfuzează ficatul este captat de hepatocite în cursul unei singure treceri prin organ.

Pătrunderea AGL în celulele hepatice are loc conform legilor cineticii. Aydin este primul care afirmă, în anul 1963, captarea AGL de către ficat în ritm constant pe unitatea de timp, independent de concentraţia lor serică. *Clearence*-ul hepatic al AGL scade totuşi, direct proporţional cu creşterea fluxului sanguin hepatic (21). Factorii nutriţionali şi hormonali clasici nu influenţează captarea hepatică a AGL; singur etanolul, produce intensificarea acestui proces.

Mecanismul intim al pasajului transmembranar hepatocitar nu este încă cunoscut. Se crede că AGL sînt captaţi şi esterificaţi la nivelul membranei, fenomen urmat de transferul lor spre reticulul endoplasmatic şi mitocondrie (9). Captarea este direct corelată cu raportul AGL/albumină, scăzînd concomitent cu creşterea concentraţiei de albumină (22). Adaosul de lizolecitină în mediul de incubaţie la *p*H al feliilor de ficat, produce creşterea captării AGL (23). Faptul atenţionează asupra rolului probabil jucat de fosfolipide în „microtransportul" AGL.

Studii recente, care utilizează AGL marcaţi separat, evidenţiază o captare hepatică crescută în special pentru acizii palmitic şi oleic, spre deosebire de acidul arahidonic care nu este captat de către ficat (24).

CAPTAREA AGL DE CĂTRE MUŞCHI

Acest proces urmează aceleaşi reguli generale ca la nivelul ficatului (9), cu deosebirea că esterificarea membranară a AGL este mai redusă. Totodată, captarea depinde de nivelul lor seric (25); glucoza, insulina, STH-ul şi epinefrina nu influenţează pasajul AGL în diafragm

sau miocard (26, 27), fenomen exacerbat de foame şi diabetul aloxanic (27). Ca şi la hepatocit, captarea maximă este preferenţială pentru acizii palmitic şi oleic ; ea nu s-a evidenţiat în cazul acidului arahidonic (24).

CAPTAREA AGL DE CĂTRE ŢESUTUL ADIPOS

Pasajul transmembranar adipocitar al AGL este bidirecţional, efectuîndu-se cu o mare intensitate şi prezentînd o deosebită importanţă deoarece este intim legat de procesele metabolice intraadipozitare (9).

Captarea AGL de către celula adipoasă este proporţională cu concentraţia lor în mediu, invocîndu-se deci în acest caz transportul lor pasiv (28), fapt infirmat de alţi autori (29). Eficienţa captării însă la acest nivel este mai mare decît la nivelul ficatului (30), invocîndu-se şi de data aceasta rolul jucat de fosfolipide (23). Se crede că esterificarea AGL nu este necesară acestui proces (31).

TRANSFERUL TRANSPLACENTAR AL AGL

La fel ca şi la animale, el a fost demonstrat şi la om, jucînd un rol deosebit în energogeneza fetusului. Interpretarea mecanismului acestui transfer în intimitate se găseşte în stadiul ipotezelor (9).

D. POOL-URILE ŞI TURNOVERUL ACIZILOR GRAŞI

Cinetica AG este de o mare complexitate datorită multitudinii *pool*-urilor, cît şi turnoverului lor deosebit de accelerat. Odată cu introducerea trasorilor radioactivi în medicină, abordarea acestei problematici a devenit o preocupare pentru multe laboratoare de lipidologie, fără a se putea afirma pînă în prezent că s-a ajuns la o descifrare completă, secvenţială şi cantitativă a dinamicii AGL în corpul uman. Se pare că ne aflăm într-o etapă preliminară în cercetare, în care acizilor graşi transportaţi în plasmă, sub forma AGL sau AG din lipoproteine, i se acordă prioritate. Experimentate pe animale (32, 33, 34), apoi reluate la om (9), studiile cineticii AGL şi AG-lipoproteine, strîns înrudite şi dependente de *pool*-urile extravasculare, se prefigurează ca subiecte pasionante de cercetare. S-ar putea ca ele să aducă date spectaculoase în lămurirea mecanismelor patogenetice ale stărilor hiperlipoemiante — hiperlipoproteinemiante.

Metodologia de studiu a cineticii AGL se bazează în esenţă pe administrarea i.v. a acizilor graşi marcaţi (acid palmitic —C^{14} sau acid oleic —H^3) fie în doză unică rapidă, fie în perfuzie lentă la care se

pot asocia lipoproteine marcate cu AG-TG-C^{14}, injectate i.v. (35). Se urmăreşte în continuare radioactivitatea plasmei, şi eventual, a unor ţesuturi de importanţă metabolică crescută (adipos, hepatic, muscular). Datele obţinute se prelucrează în funcţie de metodele compartimentale acceptate (numărul *pool*-urilor) : bicompartimentale, multicompartimentale, multicompartimentale generale. Se estimează astfel parametrii definitorii pentru cinetica AGL plasmatici în sensurile metabolice cunoscute.

S-au postulat mai multe modele care să ilustreze *pool*-urile şi cinetica AGL la om şi mamifere. Un model general este cel propus de Nikkila (9) şi reprodus în fig. I.20. *Pool*-ul AGL plasmatici este asigurat de *pool*-ul AG adipocitar şi al AG-TG-lipoproteici şi discutabil de cel al AG hepatici. Se remarcă reciprocitatea reacţiilor AGL plasmatici AG din ţesuturile amintite, precum şi efluxul ireversibil al AGL plasmatici spre unele ţesuturi unde catabolismul energogen este predominant (musculatură). AG din TG se referă atît la originea lor endogenă cît şi la cea exogenă.

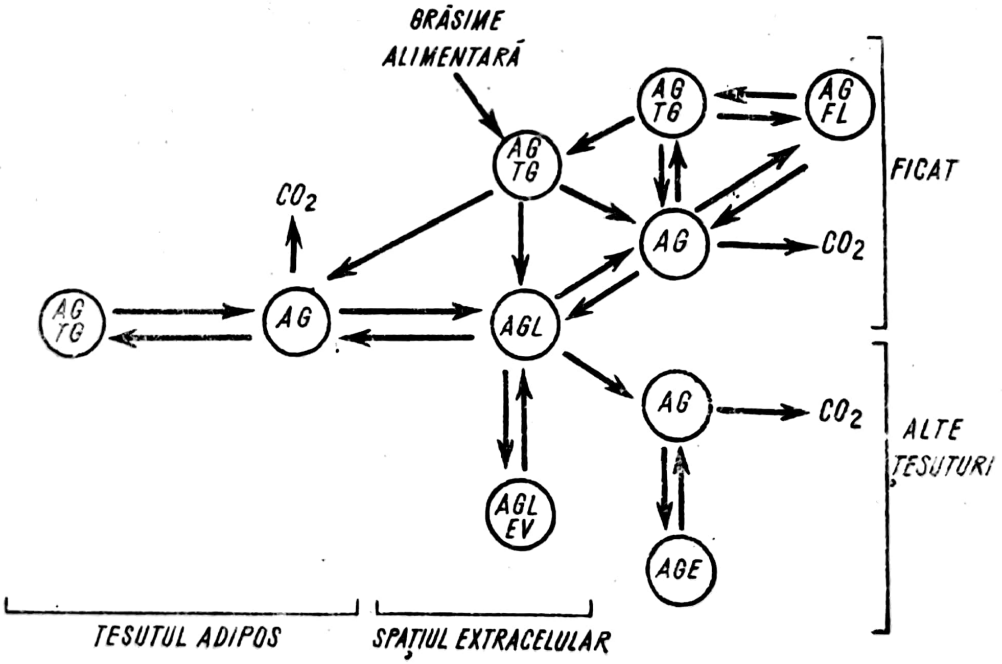


Fig. I.20. — Modelul general propus de Nikkila (9) pentru ilustrarea *pool*-urilor şi cineticii acizilor graşi la om şi mamifere.
(AG=acizi graşi ; AGL=acizi graşi liberi ; AC—TG=acizi graşi din trigliceride, AG—FL=acizii graşi din fosfolipide ; AG—EV=acizi g.aşi extravasculari).

Alte modele mai simple sau mai complexe s-au propus în funcţie de metodele de cercetare izotopică. În cele ce urmează ne vom referi la cinetica AGL şi AG-TG plasmatici bazaţi pe studiile lui Eaton şi colab. (35).

CINETICA AGL PLASMATICI

În figura I.21. este descris modelul bicompartimental în care A reprezintă *pool*-ul AGL plasmatici, iar B *pool*-ul AG extravascular şi al AG din TG plasmatice. Injectarea i.v. de AGL marcaţi este urmată de dispariţia radioactivităţii plasmatice în decurs de cîteva minute, fenomen reprezentat grafic sub forma unei curbe exponenţiale. Aceasta este consecinţa fie a captării AG de către ţesuturi sau a incorporării lor în TG serice (λ B, A), fie a efluxului lor ireversibil spre ţesuturile catabolizante energogene (λ O, A). Ulterior se depistează din nou radioactivitatea plasmatică datorită reîntoarcerii parţiale a acidului oleic în sînge (λ A, B) („reciclizarea AGL"). În tabelul I.11. sînt redaţi parametrii cinetici în cazul turnoverului AGL, conform metodei modelului teoretic descris mai sus la un subiect cu o greutate de 70 kg.

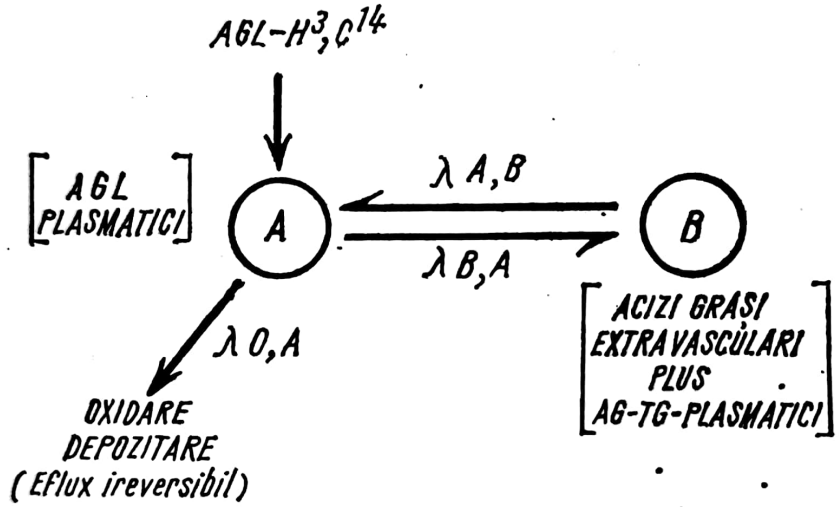


Fig. I.21. — Modelul multicompartimental propus pentru studiul turnoverului AGL plasmatici (sînt valabile o parte din simbolurile de la fig. I.20) :

în plus λ B, A=efluxul plasmatic al AGL spre ţesuturi sau spre TG plasmatice ; λ A, B=influxul de AGL din ţesuturi sau trigliceridele plasmatice ; λ O, A=efluxul ireversibil al AGL plasmatici spre ţesuturile catabolizante energogene sau depozite (modificat după Eaton şi colab., 35).

Tabelul 1.11

Parametrii cinetici ai AGL plasmatici ; calculul s-a efectuat după injectarea intravenoasă a unei singure doze de AGL marcaţi (acid palmitic C^{14} sau acid oleic H^3) ; s-a întrebuinţat modelul bicompartimental expus în fig. 1.21 ; s-au reprodus valorile extreme (simplificat după Eaton şi colab., 35)

AGL plasmatici µEq/ml	*Pool*-ul total al AGL plasmatici µEq	Transportul AGL totali µEq/min.	λ0, A min^{-1}	λB, A min^{-1}	Transportul ireversibil µEq/min	Transportul de schimb µEq/min.
0,40—0,70	1160—2020	318—707	0,151—0,348	0,024—0,103	198—622	49—126

CONVERSIUNEA AGL ÎN AG-TG LIPOPROTEICI

Succesiunea fenomenelor metabolice care urmează injectării i.v. a AG marcați pînă la incorporarea lor în TG lipoproteinice este reprodusă în figura I.22., iar parametrii cinetici definitorii ai acestui model multicompartimental sînt redați în tabelul I.12. Spre deosebire de modelul bicompartimental, aici se postulează și linia metabolică A-C calea secvențelor L_{1-5} care marchează incorporarea AG în TG plasmatice lipoproteice (simbol C). Cele 5 secvențe au fost arbitrar alese, dar se consideră ca un număr minim existent în acest proces. λ C, C reprezintă coeficientul de transport al AG-TG plasmatici. Timpul mediu de tranzit al acizilor grași pentru cele 5 compartimente de sinteză a TG lipoproteice este de 31—40 minute. Din analiza parametrilor cinetici (tabelul I.12.) reiese clar că transportul AG-TG lipoproteici la om, din punct de vedere cantitativ, este mai puțin important decît transportul AGL (35).

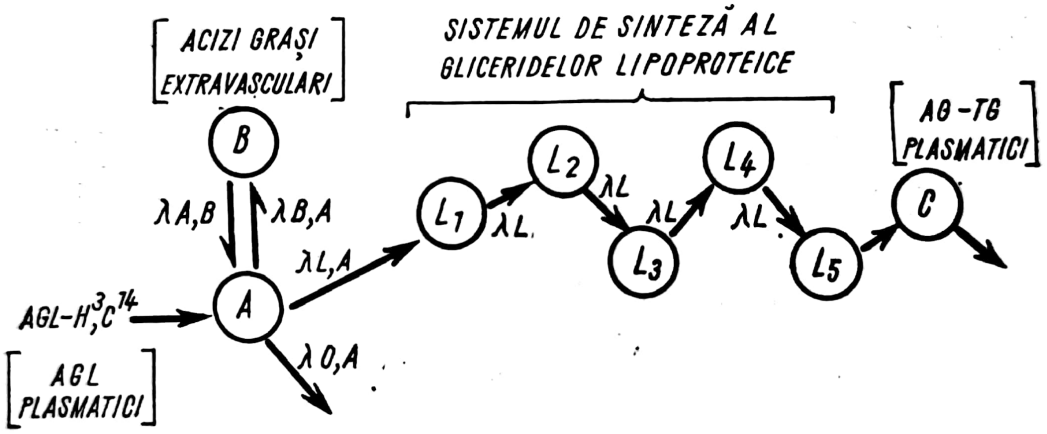


Fig. I.22. — Modelul multicompartimental întrebuințat pentru calcularea parametrilor cinetici necesari studierii transportului AG-TG plasmatici, după injectarea intravenoasă a AGL marcați (acid oleic-H^3 sau acid palmitic-C^{14}) :

sînt valabile simbolurile din figura I.21. la care se adaugă λ L, A ; λ L ; λ C, L=coeficienții de transport ai AGL spre AG—TG ; λ C, C=coeficientul de transport al AG—TG — modificat după Eaton și colab., 35.

Tabelul I.12

Parametrii cinetici ai AG—TG plasmatici ; calculul s-a efectuat conform modelului multicompartimental din fig. I.22., utilizînd date obținute după injectarea unică a AGL marcați (acid palmitic — C^{14} sau acid oleic — H^3) (simplificat după Eaton și colab. — 35)

Concentrația AG—TG serici µEq/l	*Pool*-ul total al AG—TG serici µEq	Coeficientul transportului AG—TG (λC, C) min^{-1}	Transportul AG—TG total (λC, C × *Pool*-ul total al AG—TG serici) µEq/min.	Coeficientul de convertire a AGL → AGTG λL, A min^{-1}	Transportul AG—TG serici spre AGL-serici (λL, Ax *pool*-ul AGL serici) µEq/min.
3,4—5	0,8—14,4	0,216—0,779	25—81	0,014—0,029	16—59

CONVERSIUNEA AG-TG LIPOPROTEICI ÎN AGL ; RECICLIZAREA ACIZILOR GRAȘI

Elucidarea cineticii acestei căi metabolice polisecvențiale a necesitat crearea unui model multicompartimental, redat în figura I.23. El reprezintă etapele care urmează injectării intravenoase de lipoproteine marcate (AG-TG-C^{14}) dintre care C-I și C-II sînt etape de trecere spre sistemul de lipoliză al TG (D_1-D_2).

O viziune de ansamblu asupra cineticii AGL și AG-TG plasmatice lipoproteice în cadrul căilor metabolice cunoscute (sinteza lipoproteinelor și lipoliza trigliceridelor din VLGL) este oferită de modelul multicompartimental general (fig. I.24). Parametrii cinetici definitorii ai acestui model, calculați după injectarea i.v. simultană a lipoproteinelor marcate (AG-TG-C^{16}) și AGL marcați (acid oleic —H^3), sînt redați în tabelele I.13. și I.14. Trebuie menționat totuși faptul că la om reciclizarea AGL și TG endogene este un fenomen important (AG-TG plasmatici lipoproteinici fiind metabolizați pe această cale, într-un procentaj ridicat).

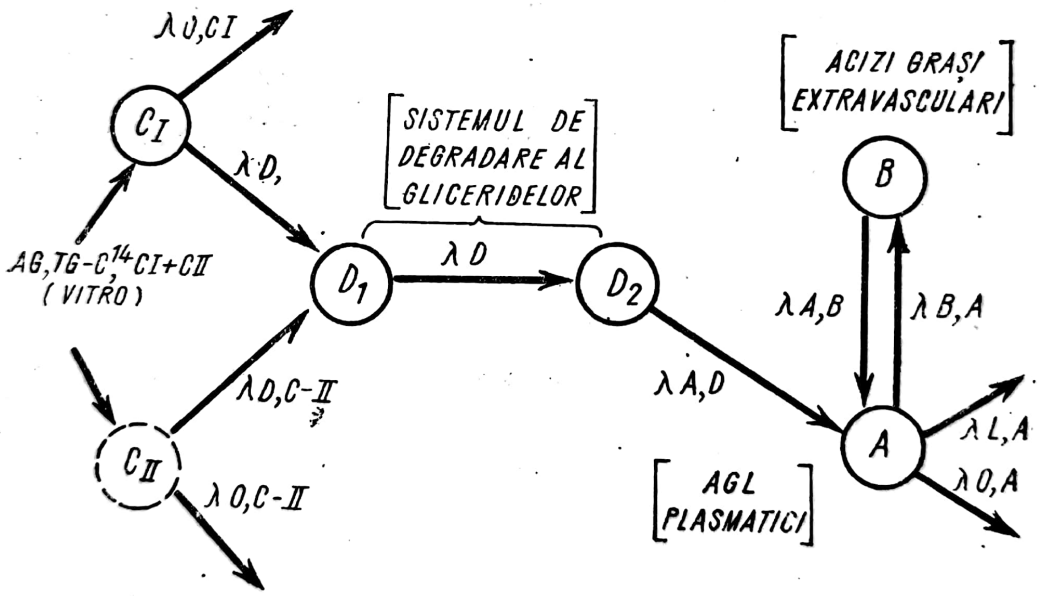


Fig. I.23. — Model multicompartimental necesar analizei cinetice în cazul studierii transportului AG-TG ; calculul se efectuează după injectarea intravenoasă a lipoproteinelor marcate (AG-TG-C^{14}) și a AGL marcați (acid oleic-H^3) :

simbolurile sînt explicate în text, în figura I.24, tabelele I.13 și I.14. — după Eaton și colab., 35.

Prin metodologia descrisă mai sus, se evidențiază și *pool*-ul AGL extravascular. (*Pool*-ul B este redat în fig. I.21, I.23 și I.24). El cuprinde spațiul extracelular, spațiul intracelular în unele țesuturi și sistemul limfatic (35), reprezentînd 30% din totalul transportului AGL plasmatici.

Analiza individuală a turnoverului AGL relevă rezultate contradictorii. În studiile iniţiale ale lui Fredrickson şi Gordon (36, 37), efectuate la om, nu se notează diferenţe între turnoverul acizilor palmitic, oleic, linoleic. Ulterior se demonstrează că acizii lauric, miristic, palmit-oleic şi linoleic au un turnover mai rapid decît acidul palmitic, în timp ce acizii stearic şi arahidonic au un turnover scăzut (38).

Este posibil ca datorită acestor diferenţe de comportament cinetic, să asistăm în viitor la individualizarea fiecărui acid gras atît ca distribuţie (*pool*-uri), cît şi ca turnover.

La începutul acestui capitol am detaliat diferitele surse ale AGL plasmatici. Aceeaşi diferenţă se pare că există şi în repartiţia lor tisulară în cadrul secvenţei 3. Dacă aportul diferitelor ţesuturi la *pool*-ul AGL poate fi evaluat, estimarea inversă este foarte dificilă (9). Studiile cu trasori radioactivi evidenţiază că 50—80% din AGL marcaţi injectaţi i.v. se depistează în lipide, majoritatea în ficat, muşchi şi ţesut adipos (39, 40).

Abordarea cineticii AG poate fi realizată numai în accepţiunea discutării concomitente a cineticii TG şi LP. În dorinţa unei mai bune sistematizări, prezentarea acestora va fi făcută în capitolele respective.

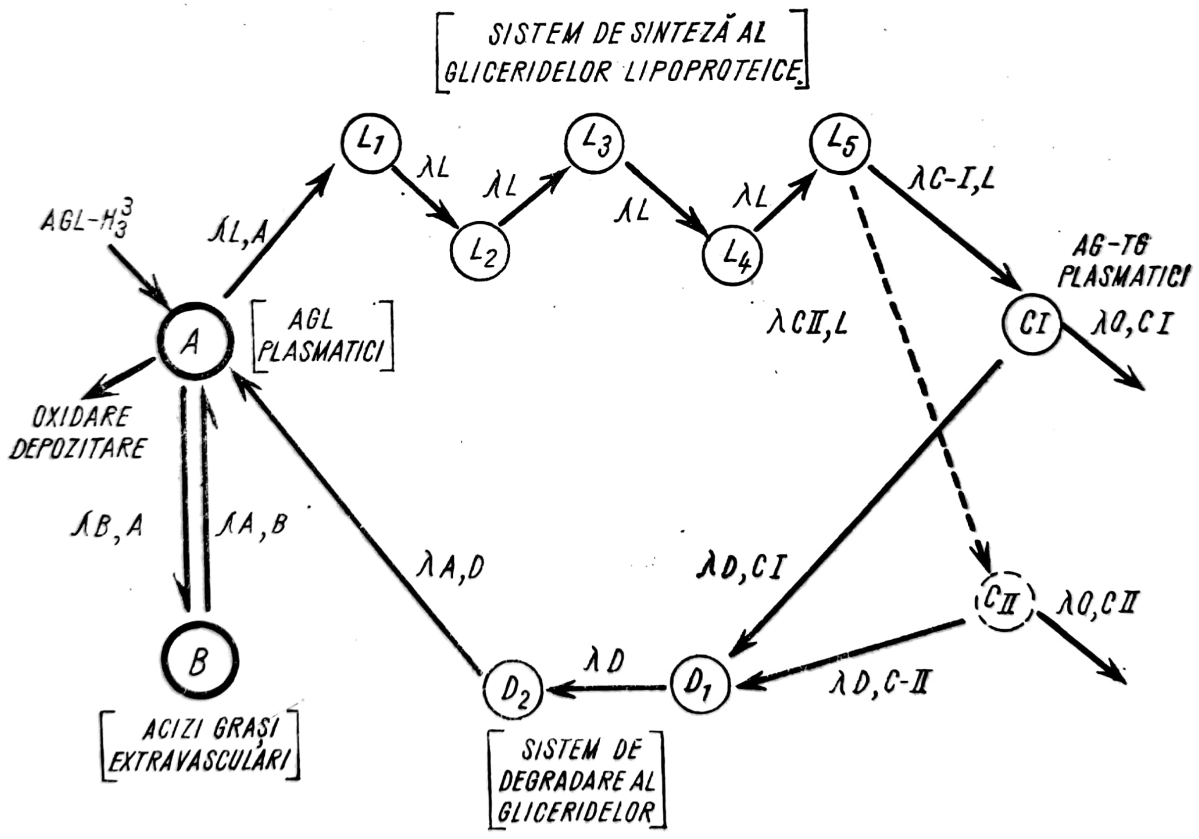


Fig. I.24. — Cinetica generală a acizilor graşi liberi şi trigliceridelor lipoproteice plasmatice, reprezentate prin modelul multicompartimental general; parametrii cinetici au fost calculaţi după injectarea intravenoasă simultană a lipoproteinelor marcate (AG-TG-C^{14}) şi AGL liber marcaţi (acid oleic-H^3):
simbolurile sînt explicate în text în tabelele I.13 şi I.14 — după Eaton şi colab., 35.

Scanned with OKEN Scanner

Sinteza compartimentării AG (*pool*-uri şi turnover) în cadrul sistemului „input-output" (Leontieff, 41) o postulăm conform schemei din figura I.25. Secvenţa „input" este formată de absorbţia şi biosinteza AG, precum şi lipoliza TG tisulare sau lipoproteice. Secvenţa „output" cuprinde în esenţă oxidarea energogenă a AG, depozitarea lor tisulară sub formă de TG şi participarea la sinteza TG, fosfolipide, LP, esterificarea colesterolului sau compoziţia membranei celulare, cît şi la cetogeneză. În cele ce urmează, expunerea se va face astfel : în secvenţa „input" se abordează problema sintezei AG, absorbţia urmînd a se discuta la capitolul trigliceridelor unde se va trata şi lipoliza TG ca sursă de AGL. În cadrul secvenţei „output" oxidarea energogenă a acizilor graşi alături de cetogeneză, vor fi subiectele detaliate. Depozitarea şi participarea AG la diferite sinteze este obiectul altor capitole.

Tabelul I.13

Parametrii cinetici utilizaţi în studierea transportului acizilor graşi înglobaţi în trigliceridele plasmatice lipoproteinice (AG – TG) ; calculul lor s-a efectuat conform modelului multicompartimental general (fig. I.24) după injectarea intravenoasă simultană a lipoproteinelor mareate (AG – TG – G^{14}) şi a acizilor graşi liberi marcaţi (acid oleic – H^3) (simplificat după Eaton şi colab. – 35)

Parametrii studiaţi	Valorile absolute
Concentraţia AG–TG plasmatici [μEq/ml]	5 3,4
Mărimea *pool*-ului AG–TG plasmatici [μEq]	14.400 9.850
Transportul total al AG–TG plasmatici (C_1) [μEq/min]	56 ($\lambda C-1C-I = 0{,}0039\pm20\%$) 56 ($\lambda C-1C-I = 0{,}0057\pm30\%$)
Transportul Ag–TG care se reciclează în AGL plasmatici (C → D → A) [μEq/min]	35 ± 4 ($\lambda D,\ C-I = 0{,}0024\pm12\%$) 38 ± 4 ($\lambda D,\ C-I = 0{,}0039\pm11\%$)
Efluxul ireversibil al AG–TG (C → O) [μEq/min]	21 ± 4 ($\lambda O,\ C-I = 0{,}0015\pm10\%$) 18 ± 4 ($\lambda O,\ C-I = 0{,}0018\pm22\%$)
Mărimea *pool*-ului sistemului de lipoliză al gliceridelor plasmatice ($D_1 + D_2$) [μEq]	96 290
Timpul de tranzit prin sistemul de lipoliză al gliceridelor plasmatice [min]	35 ($\lambda D = 0{,}599\pm10\%$) 19 ($\lambda D = 0{,}097\pm22\%$)
Mărimea *pool*-ului sistemului de sinteză al AG–TG lipoproteice ($L_1 \rightarrow L_5$) [μEq]	1415 720
Timpul de tranzit prin sistemul de sinteză al lipoproteinelor [min.]	25 ($\lambda L = 0{,}157\pm15\%$) 26 ($\lambda L = 0{,}155\pm22\%$)

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul I.14

Parametrii cinetici utilizaţi în studierea transportului acizilor graşi liberi plasmatici în cadrul modelului multicompartimental general (fig. I.24). Calculul s-a efectuat după injectarea i.v. simultană a lipoproteinelor marcate (AG—TG—C^{14}) şi a acizilor graşi liberi marcaţi (acid oleic — H^3) (simplificat după Eaton şi colab., 35)

Parametrii studiaţi	Valorile absolute
Concentraţia AGL plasmatici [μEq/ml]	0,6 0,4
Mărimea *pool*-ului AGL plasmatici [μEq]	1730 1160
Mărimea *pool*-ului AGL extravasculari [μEq]	6620±8% 4730±8%
Transportul total al AGL plasmatici [μEq/min.]	418 (λA, A = 0,214) 294 (λA, A = 0,253)
Transportul în cadrul schimbului cu *pool*-ul AGL extravasculari (A → B) [μEq/min]	106 (λB, A = 0,061±10%) 114 (λB, A = 0,098±8%)
Efluxul plasmatic ireversibil (A → O) [μEq/min.]	272 (λO, A = 0,157±2%) 164 (λO, A = 0,141±3%)
Transportul prin sistemul de sinteză al gliceridelor (A → L) [μEq/min]	40 (λL, A = 0,023±12%) 16 (λL, A = 0,014±18%)
Aportul de AGL în plasmă din *pool*-ul AGL extravasculari (B → A) [μEq/min]	106 (λA, B = 0,016±8%) 114 (λA, B = 0,024±8%)
Aportul de AGL în plasmă din sistemul de lipoliză al gliceridelor (D → A) [μEQ/min]	35 38
Aportul de AGL în plasmă, din grăsimea de depozit şi/sau alte ţesuturi [μEq/min.]	277 142

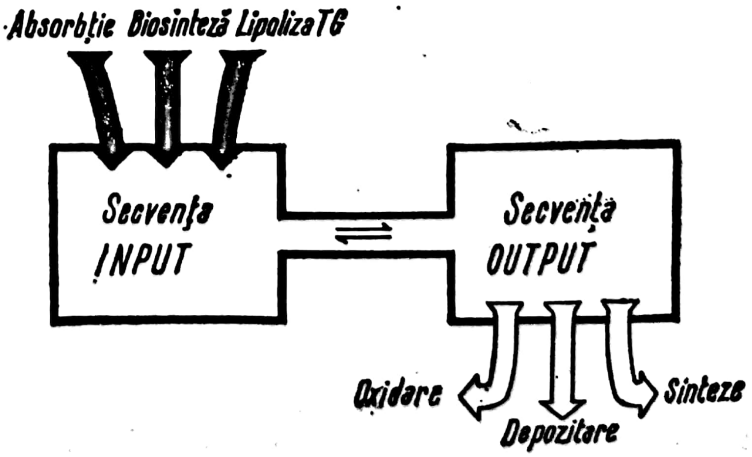


Fig. I.25. — Ipoteza compartimentării acizilor graşi în cadrul sistemului „input-output".

Scanned with OKEN Scanner

I.3.3. SECVENȚA „INPUT" ÎN METABOLISMUL ACIZILOR GRAȘI. BIOSINTEZA ACIZILOR GRAȘI

Biosinteza AG a suscitat interesul biochimiștilor în ultimele două decenii, elucidarea ei fiind rodul unor cercetări laborioase dintre care școala lui Lynnen și Vagelos au un merit deosebit (44—50).

Studiile s-au efectuat pe animale sau pe organisme inferioare (bacterii). Este foarte probabil ca transpunerea concluziilor lor la om să fie în parte fortuită.

Organismul uman sintetizează acizi grași saturați pe două căi diferențiate atît ca topografie intracelulară, cît și secvențial. Este vorba, de pe o parte, de sinteza citoplasmatică „de novo" a AG avînd ca punct de plecare acetil-CoA și, pe de altă parte, de sinteza mitocondrială a AG prin alungirea catenei. În organismul uman se pot sintetiza și acizi grași nesaturați cu o dublă legătură (42, 43).

A. BIOSINTEZA CITOPLASMATICĂ „DE NOVO" A ACIZILOR GRAȘI SATURAȚI

Punctul de plecare al biosintezei citoplasmatice „de novo" a acizilor grași saturați îl reprezintă unitățile cu doi atomi de carbon. Prin carboxilarea lor, grație acetil-CoA carboxilazei se formează malonil CoA. Ulterior, un sistem multienzimatic, denumit sugestiv „sinteza acizilor grași", catalizează polisecvențial transformarea malonil CoA în AG.

În figura I.26. este redată schema generală a sintezei AG saturați, precum și sistemele enzimatice care le induc :

— carboxilarea acetil-CoA (secvența 1) are loc în două etape intermediare în cursul cărora este necesară prezența biotinei, Mg^{++}, Mn^{++}, ATP, CO_3H^- (donator de CO_2) și enzima specifică Ac-CoA Cbx ;

— în cursul secvenței 2a, 2b și 3 se formează acetoacetil-S-ACP, plecînd fie de la acetil CoA (2a), fie de la malonil CoA (2b), trecîndu-se prin produșii intermediari foarte importanți : acetil-S-ACP și malonil-S-ACP. Enzimele răspunzătoare de aceste reacții sînt : acetil-CoA-acetiltransferaza, malonat-CoA-transferaza și 3-cetoacil-CoA-tiolaza ;

— acetoacetil-S-ACP este redus ulterior (secvența 4), apoi dehidratat (secvența 5) și din nou redus (secvența 6). Produșii intermediari sînt beta-hidroxibutiril-S-CoA, crotonil-S-ACP și butiril-S-ACP. În efectuarea acestor reacții, intervin următoarele enzime : acetoacetil-CoA-reductaza, enoil-CoA-hidrataza și butiril CoA-dehidrogenaza ;

— secvența 7 indică începutul unor serii de reacții succesive în care butiril-S-ACP reacționează cu malonil-S-ACP pentru a forma la început beta-cetocaproil-S-ACP și în final acizi grași, cu cel mult 16 și 18 atomi de carbon (acizi palmitic și stearic, 44).

Biosinteza citoplasmatică a AG saturați presupune integritatea unor condiții și sisteme funcționale preliminare sau concomitente,

Secvențele biosintezei acizilor grași saturați — **Enzimele necesare biosintezei**

1 Acetil CoA $CH_3-C(=O)-S-CoA$ + Biotină + CO_2, ATP → ADP + Pi → Malonil-CoA $HOOC-CH_2-C(=O)-S-CoA$

Acetil—CoA—Carboxilaza
[Acetil—CoA : CO_2 — LIGAZA (ADP)] 6.4.1.2
Sistemul multienzimatic
Sintetaza acizilor grași

2a $ACP-SH$ + Acetil CoA → CoA—SH → Acetil—S—ACP $ACP-S-C(=O)-CH_3$

Acetil — CoA — Acetil — transferaza
[Acetil—CoA (ACP) Acetil-transferaza] 2.3.9.

2 b $ACP-SH$ + Malonil CoA → CoA—SH → Malonil—S—ACP $ACP-S-C(=O)-CH_2-COOH$

Malonat—CoA—transferaza
[(ACP)—Acetil-CoA : malonat—CoA—transferaza] 2.8.3.3

3 Acetoacetil—S—ACP $ACP-S-C(=O)-CH_2-C(=O)-CH_3$ ← ACP—SH, CO_2 ← $ACP-S-C(=O)-CH_3$ + $ACP-S-C(=O)-COOH$

3—cetoacil—CoA—tiolaza
[(ACP) — Acil — CoA ; (ACP)— Acetil —CoA—C—] 2.3.1.16

4 $ACP-S-C(=O)-CH_2-C(=O)-CH_3$ + NADPH → NADP + H^+ → B hidroxibutiril — S — CoA $ACP-S-C(=O)-CH_2-C(H)(OH)-CH_3$

Aciltransferaza
Acetoacetil—CoA—reductaza
[ACP—ID—3—hidroxi-acil—CoA : NADPH oxidoreductaza] 1.1.1.36

5 $ACP-S-C(=O)-CH_2-C(H)(OH)-CH_3$ → H_2O → Crotonil—S—ACP $ACP-S-C(=O)-C(H)=C(H)-CH_3$

Enoil—CoA—hidrataza
[(ACP)—D-3-Hidroxiacil—CoA Hidroxilaza] 4.2.1.17

6 $ACP-S-C(=O)-C(H)=C(H)-CH_3$ + NADPH → NADP → Butiril—S—ACP $ACP-S-C(=O)-CH_2-CH_2-CH_3$

Butiril—CoA—Dehidrogenaza
[(ACP) Butiril—CoA : NADPH Oxidoreductaza] 1.3.99.2

7 $ACP-S-C(=O)-CH_2-CH_2-CH_3$ + $ACP-S-C(=O)-CH_2-COOH$ → ACP, CO_2 → β-Cetocaproil—S—ACP $ACP-S-C(=O)-CH_2-C(=O)-CH_2-CH_2-CH_3$

3-Cetoamil—CoA—tiolaza
[(ACP)—Acil—CoA(ACP—) Acetil—CoA—C— —Aciltransferaza] 2.3.1.16

Fig. 1.26. — Biosinteza citoplasmatică „de novo" a acizilor grași saturați ; secvențele biochimice și enzimele necesare. Explicație în text ; ACP = acil carrier protein = proteina transportoare de acil — modificată după Mazur și Harrow, 3.

Scanned with OKEN Scanner

dintre care indispensabile sînt : sursele de acetil CoA, aparatul enzimatic şi ACP, sistemul carnitinic, donatorii de H^+ şi condiţiile energetice intracelulare adecvate. La nivelul acestor parametri se produce de fapt şi reglarea intracelulară a biosintezei citoplasmatice a AG saturaţi.

SURSELE DE ACETIL CoA

Acetil CoA în celulă apare predominant pe calea glicolizei şi într-o măsură mai mică în urma catabolismului aminoacizilor şi acizilor graşi. Deşi ultimele două eventualităţi nu reprezintă donatori importanţi de acetil CoA, se ştie că anumiţi aminoacizi sînt lipogenetici. Studii cu aminoacizi marcaţi cu C^{14} evidenţiază o incorporare diferită în AG neoformaţi conform schemei (51) :

$$\left[\text{leucină} > \text{alanină} > \left\{\begin{matrix}\text{izoleucină}\\ \text{tirosină}\\ \text{serină}\end{matrix}\right\} > \left\{\begin{matrix}\text{valină}\\ \text{metionină}\\ \text{treonină}\end{matrix}\right\}\right.$$

Căile de finalizare a sintezei de AG sînt totuşi diferite : leucina pe calea acetat, iar valina pe calea propionat (51). Lucrările lui Mietinen (52) semnalează posibilitatea lipogenezei (AG-TG) din leucină calea alfa-ceto-izocaproat, HMG şi acetat (fig. I.6), a cărei importanţă ar putea fi crescută în unele stări hiperlipedimiante.

Glicoliza este donatorul de acetil-CoA de importanţă majoră. Practic, orice glucid, care prin catabolizare ajunge la etapa acetil-CoA, poate participa la biosinteza AG ; totuşi, glucoza şi fructoza, ca produs al hidrolizei sucrozei, sînt de cea mai mare importanţă, în special pentru stările hipertrigliceridemice umane. Experimente pe şobolani şi şoareci demonstrează că 5—21% din glucoză este convertită în AG (53—55). Pe de altă parte, studii efectuate la om, pe material biopsic hepatic, evidenţiază că fructoza este un precursor mai activ al AG, comparativ cu glucoza (56), datorită accelerării considerabile a metabolismului fructozei pe calea glicolizei. Cauza acestui ritm metabolic crescut este activitatea mai intensă a enzimelor metabolizante ale fructozei pe calea glicolizei, comparativ cu enzimele glicolitice ale glucozei (57). În figura I.27. sînt reprezentate, după Zakim (56), căile glicolitice în cazul glucozei şi fructozei, ca surse de acetil-CoA.

Deoarece acetil-CoA se formează intramitocondrial, iar biosinteza AG saturaţi este un fenomen extramitocondrial, se ridică problema pasajului transmembranaro-mitocondrial al unităţilor C_2. Se cunoaşte faptul că membrana mitocondrială este puţin permeabilă pentru acetil CoA (58). În această eventualitate, cum ajunge acetil CoA în citoplasmă ? Se cunosc trei eventualităţi (fig. I.28.) :

— disocierea acetil CoA în acetat + CoA, graţie acetil CoA deacelazei mitocondriale ; acetatul liber traversează membrana mitocondrială ; în citoplasmă este reunit cu CoA graţie acetattiokinazei, formînd acetil CoA. Acestui mecanism nu i se acordă importanţă cantitativă deosebită ;

— transferul acetil CoA prin intervenţia sistemului carnitinic, care deşi este contestată de unii autori, trebuie admisă ca posibilitate (42) ;

— transferul acetil CoA sub forma citratului şi glutamatului este, neîndoielnic, modalitatea principală de transfer extramitocondrial a grupării acetil CoA (1, 59—64).

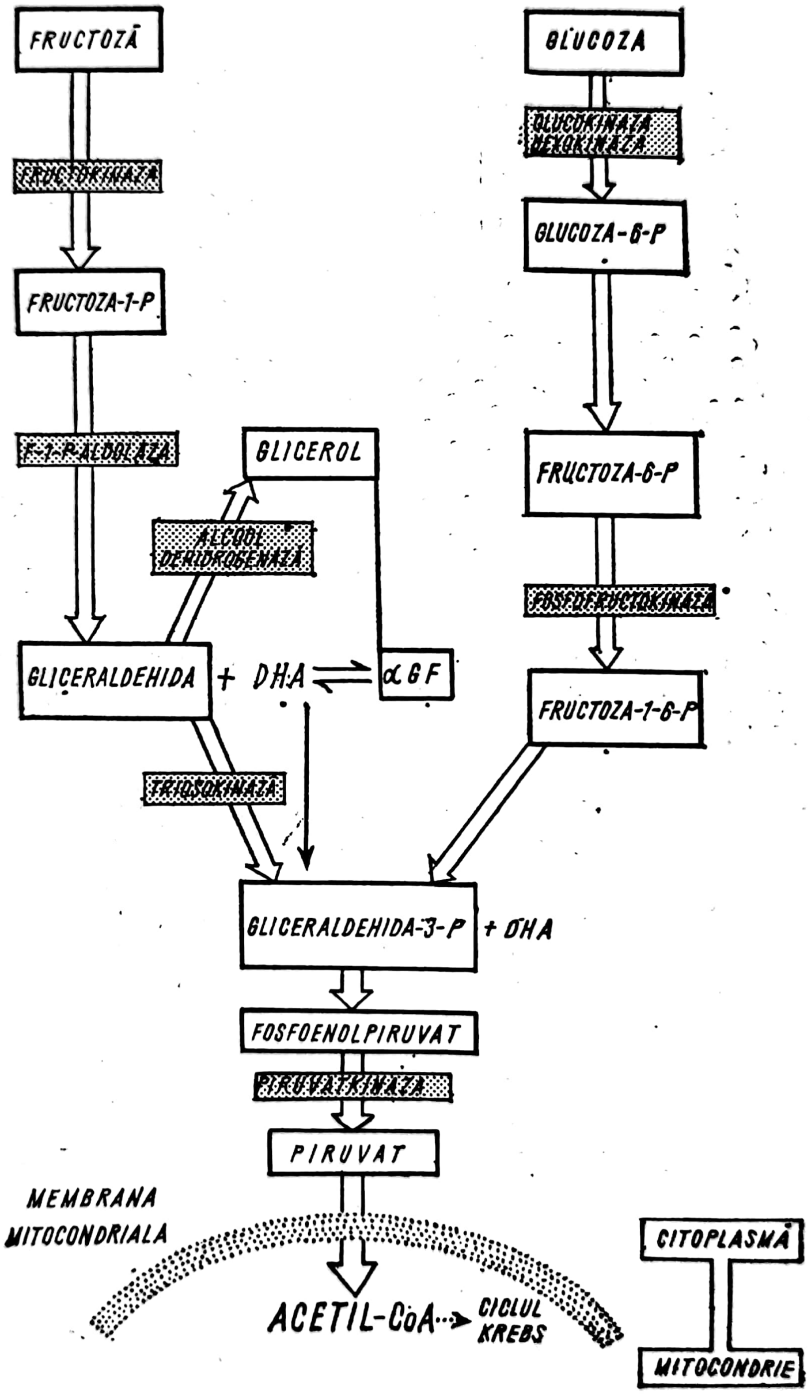


Fig. I.27. — Principalele secvenţe ale metabolizării glucozei şi fructozei pe calea glicolizei :

DHA=dihidroxiacetonă ; alfa-GF-alfaglicerofosfat — modificată după Zakim, 56.

Acetil CoA, condensîndu-se cu oxalacetatul, pătrunde în ciclul Krebs, formînd printre alţi produşi, citrat. Citratul poate părăsi singur mitocondria, sau se poate transforma în alfa-cetoglutarat care, prin aminare, devine glutamat. Difuzibilitatea acestuia înspre citoplasmă este

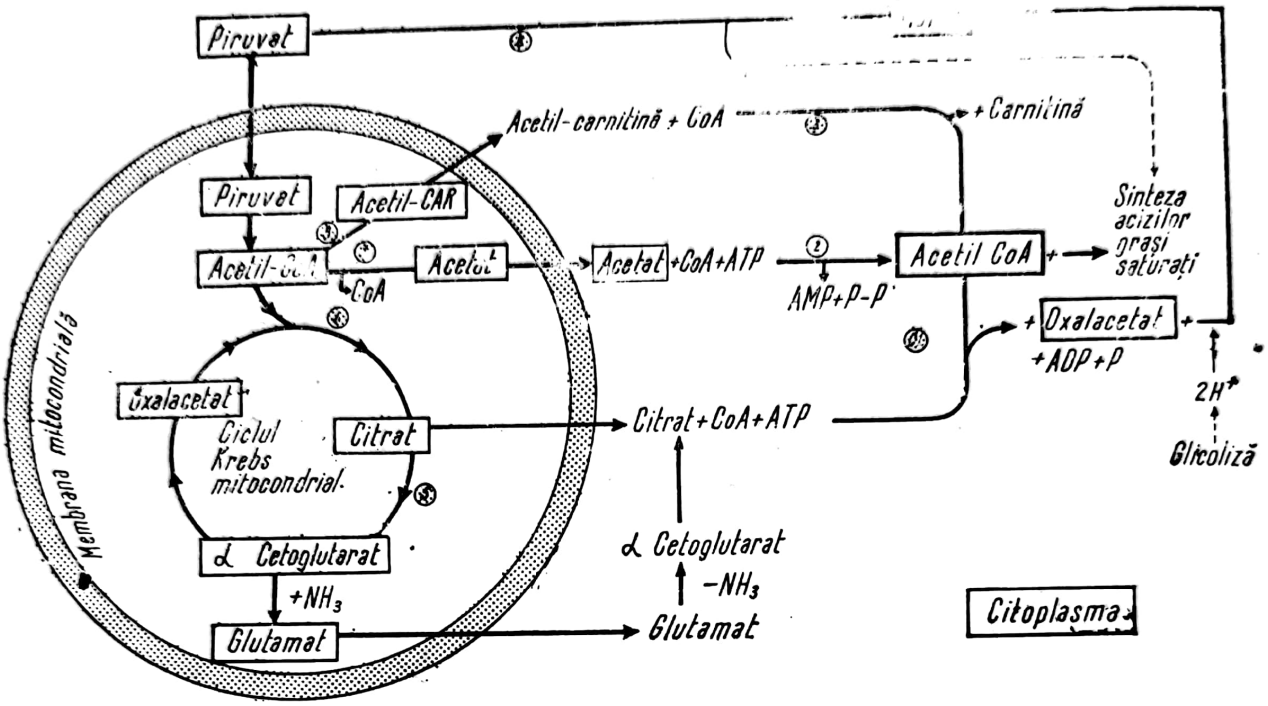


Fig. I.28. — Căile de pasaj transmembranaro-mitocondrial ale acetil-CoA; cifrele haşurate reprezintă: locul de acţiune al acetil-CoA-deacilazei (1), acetattiokinazei (2), carnitin-aciltransferazei (3), enzima de condensare sau citrat sintetaza (4), izocitric dehidrogenaza (5), enzima malică (6) (malaedehidrogenaza), CL=enzima de clivaj a citratului.

mai mare ca a citratului (65). În citoplasmă, glutamatul se transformă în citrat, iar acesta prin intervenţia ATP, CoA şi a enzimei de clivaj a citratului (CL = cleavage enzime) se transformă în acetil CoA şi oxalacetat (fig. I.28.).

Oxalacetatul se va converti în malat, cu ajutorul a $2H^+$ proveniţi din glicoliză. Malatul se transformă în piruvat prin intervenţia malat-dehidrogenazei (enzima-malică). Concomitent, se donează $2H^+$ care vor fi folosiţi în sinteza AG. Piruvatul va intra în mitocondrie creindu-se astfel posibilitatea reluării reacţiilor descrise anterior. Se observă deci existenţa unui ciclu funcţional „ciclul malic-enzimei", a cărui importanţă în sinteza AG este deosebită (64). Se presupune şi posibilitatea transformării piruvatului în oxalacetat, în citoplasmă. Se realizează astfel un alt ciclu funcţional — ciclul transhidrogenării malice (64a) (fig. I.29.).

Enzima de clivaj a citratului îndeplineşte un rol deosebit de important în reglarea biosintezei acizilor saturaţi, pe de o parte, datorită intervenţiei ei în pasajul transmembranaro-mitocondrial al acetil CoA (80% din acetil CoA apare în citoplasmă pe această cale, 66), iar pe de altă parte, datorită faptului că fiind supusă controlului adenilic

Scanned with OKEN Scanner

(inhibată de ADP, competitiv cu ATP) activitatea ei depinde de starea energetică a celulei (67). Rolul său deosebit în biosinteza AG saturaţi este atestat de experienţele pe animale, care demonstrează variaţia activităţii ei în diferite ţesuturi, în funcţie de intensitatea lipogenezei.

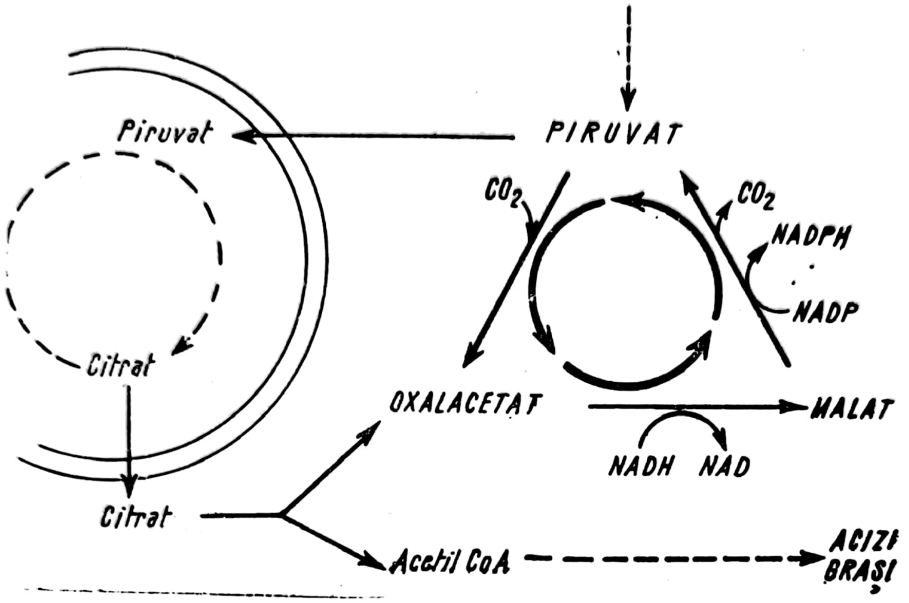


Fig. I.29. — Ciclul transhidrogenării malice — simplificat după Ballard şi Hanson, 64 a.

APARATUL ENZIMATIC

Aparatul enzimatic răspunzător de biosinteza AG saturaţi este destul de redus numeric, comparativ cu alte sisteme sintetizante. Cu toate acestea, complexitatea mecanismului de acţiune este deosebită, iar structura SAG a fost descifrată numai în ultimii ani.

1. *Acetil-CoA-carboxilaza.* Catalizează prima reacţie din lanţul de sinteză şi este foarte importantă datorită faptului că reprezintă etapa limitantă a sistemului sintetizant (44, 68). În virtutea acestui fapt, apar ca foarte interesante proprietăţile sale reglatorii :

— activarea enzimei de către citrat este un fapt de cea mai mare importanţă în biosinteză AG, fenomen atestat iniţial de numeroase experimente pe animale (69, 71). Se consideră că citratul este indispensabil activităţii enzimei prin inducerea unor modificări în starea ei de agregare (3). Totodată se observă, deşi nu constant, un paralelism între concentraţia intracelulară de citrat şi biosinteza AG saturaţi (42) ;

— inhibarea enzimei de către AG produşi de tipul acid CoA şi malonil-CoA. Deşi nu pare plauzibil ca aceste mecanisme să fie operante la om, ideea apare, cel puţin din punct de vedere teoretic, interesantă deoarece este interpretată în contextul inhibiţiei *feed-back* de către produsul final.

2. *Sintetaza acizilor graşi (SAG).* Este vorba de un complex multienzimatic format din cele 7 enzime redate în fig. I.30.

Scanned with OKEN Scanner

Ele sînt distribuite în jurul grupării tiolice (SH) care transportă intermediarii AG făcînd parte din proteina transportoare de acil (acyl carrier protein = ACP).

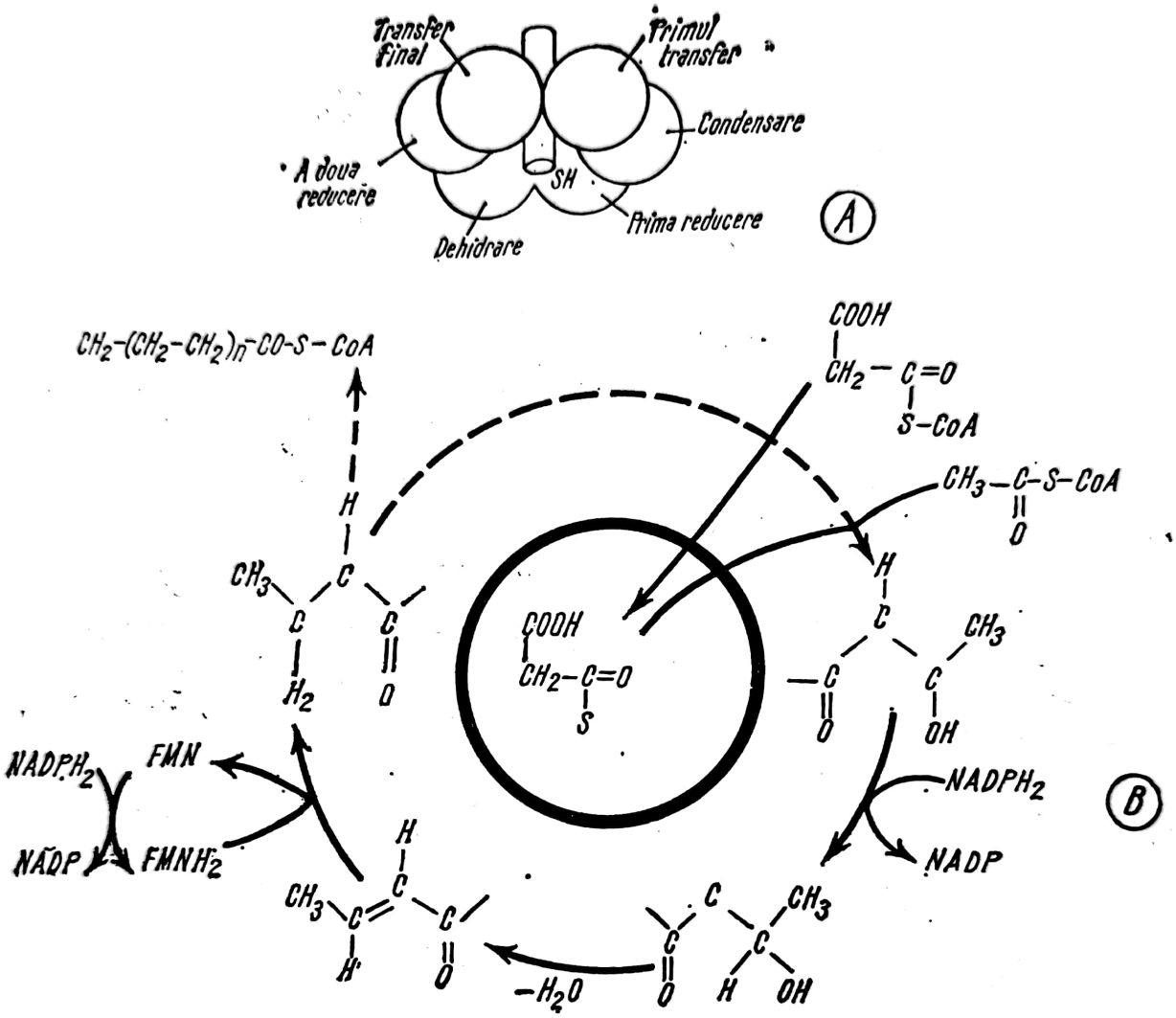


Fig. I.30. — Modelul ipotetic al sistemului multienzimatic, care intervine în sinteza acizilor graşi saturaţi; sintetaza acizilor graşi (partea superioară a figurii —A); subunităţile sînt dispuse astfel, încît corespund cu reacţiile din **partea inferioară a figurii B.**

Sintetaza acizilor graşi este formată din 7 enzime (redate în fig. I.26 grupate în jurul grupării tiolice (SH), care transportă intermediarii acizilor graşi, făcînd parte din proteina transportoare de acid (ACP) — după Lynen, 41.

ACP nu este o enzimă, ci o substanţă cu sarcini transportoare specifice, avînd greutatea moleculară de 100 000 şi o structură complexă (72) (fig. I.31.); partea peptidică este formată din numeroşi aminoacizi diferenţiaţi după specie, dintre care obligator serina (44), al cărei grup funcţional SH este liber pentru legătura cu grupul acil (3).

Sinteza şi degradarea ACP are loc sub influenţa a două enzime (44):

— ACP sintetaza care catalizează reacţia APo ACP + CoA holo ACP;

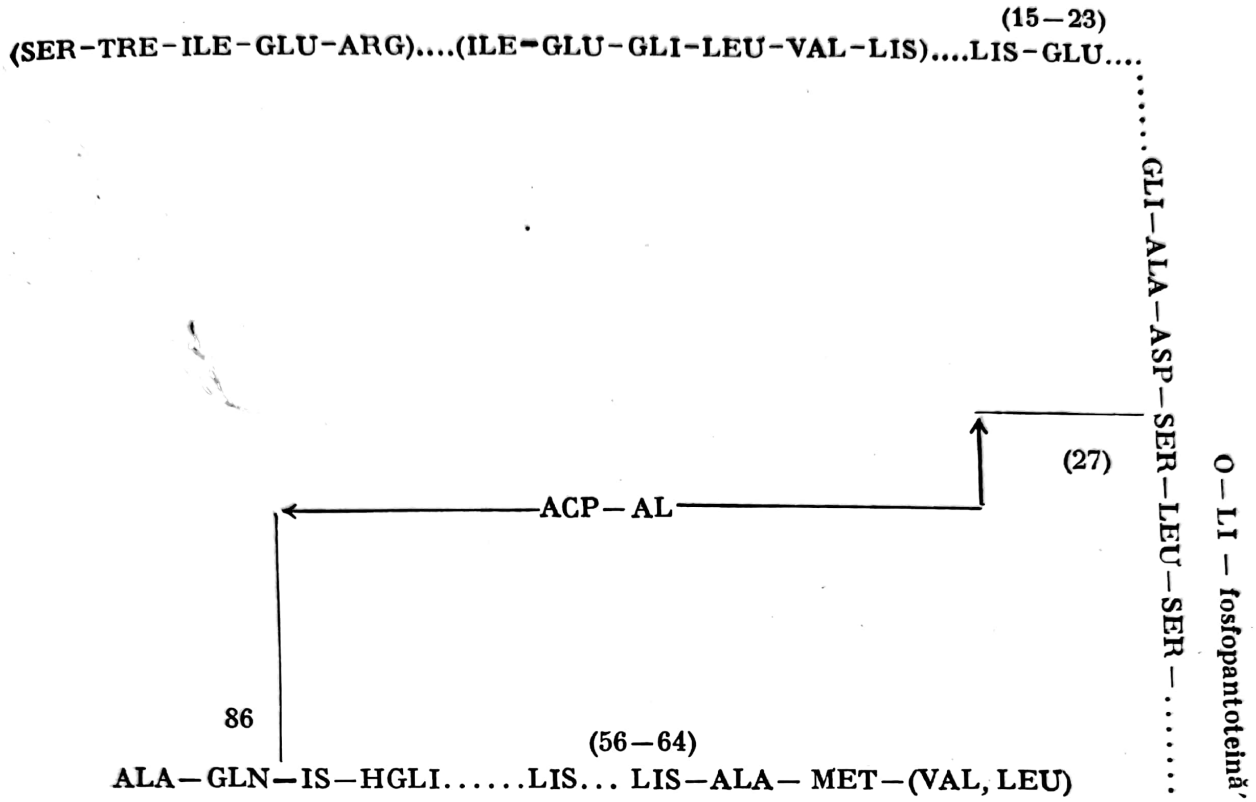


Fig. I.31. — Structura parţială a ACP : partea prostetică este formată din 4′, fosfopanteteină care se leagă covalent de grupul hidroxil al serinei din poziţia 27 a polipeptidului — simplificată după Majerus, 72.

— ACP hidrolaza care catalizează desfacerea ACP în 4′-fosfopantoteină + apo ACP. Interrelaţia între acestea este redată în figura I.32.

Proprietăţile reglatorii ale sistemului multienzimatic SAG sînt mai puţin importante decît Ac CoA Cbx. S-a dovedit experimental că activitatea SAG este inhibată de produşi de tipul acil CoA şi AG cu lanţ lung prin mecanism feed-back negativ, în cadrul controlului sintezei AG de către produsul final (73, 74). Alţi autori contestă valabilitatea acestor afirmaţii (75, 76).

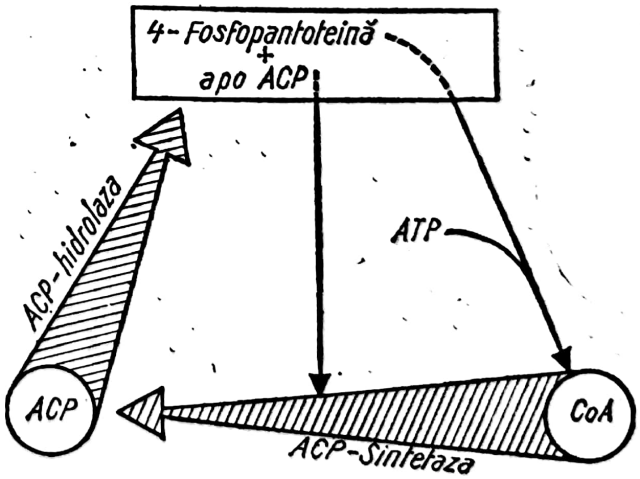


Fig. I.32. — Sinteza şi degradarea ACP; ACP-hidrolaza catalizează desfacerea ACP în 4-fosfopantoteină şi apoACP ; acestea vor participa la refacerea ACP astfel :
4-fosfopanteteina+ATP va forma CoA care, unindu-se cu ApoACP sub influenţa ACP sintetazei, va genera holo-ACP — modificată după Vagelos, 44.

ROLUL ECHIVALENŢILOR REDUCĂTORI

În biosinteza citoplasmatică „de novo" a acizilor graşi saturaţi există reacţii de reducere

foarte importante (fig. I.28 și 29). Principalul donator de H^+, NA DPH^+ (77) este generat pe mai multe căi (42) :

— calea pentozofosforică din citoplasmă, care furnizează 60% din totalul H^+, dar diferențiat pentru ficat și țesutul adipos ;

— glicoliza furnizează aproximativ 40% din H^+ necesară biosintezei citoplasmatice a AG (78) ;

— celelalte căi citoplasmatice prin care se donează H^+, adică calea malatdehidrogenazei și a ICDH, nu au o importanță cantitativă deosebită ; uneori importanța lor poate crește prin :

— sursele mitocondriale de H^+, care presupun pasajul transmembranaro-mitocondrial al malatului și transformarea lui în acid piruvic, concomitent cu formarea $NADPH^+$ (42).

REGLAREA BIOSINTEZEI CITOPLASMATICE

Reglarea intracelulară a biosintezei citoplasmatice „de novo" a AG saturați trebuie privită din trei puncte de vedere (42) : a) reglarea de către starea energetică a celulei ; b) reglarea de către produsul final ; c) reglarea genetică.

a) *Reglarea biosintezei de AG saturați de către starea energetică a celulei*

În funcție de starea energetică a celulei, acetil CoA mitocondrial va avea sau o distribuție energogenă imediată pe calea ciclului Krebs, sau va fi condus pe calea biosintezei citoplasmatice a AG saturați. Acest lucru este posibil, pe de o parte, prin inducerea directă a activității enzimelor cheie (ICDH, CL. CS, Ac. CoA. Cbx) (fig. I.28), sub influența ATP, ADP, iar pe de altă parte, prin influența enzimatică indirectă, consecință a perturbării fluxului de electroni prin ciclul Krebs.

ICDH este activată de ADP și inhibată de ATP, în timp ce în cazul enzimei de clivaj, fenomenul este invers, ADP stimulează, iar ATP inhibă activitatea enzimei. În circumstanțele unui potențial energetic intracelulor scăzut (ATP redus, iar ADP în concentrație crescută) activitatea ICDH crește, iar cea a CL scade. În felul acesta, citratul este angajat energogen pe calea ciclului Krebs. Fapte experimentale demonstrează convingător acest lucru (79).

Citratsintetaza (CS) este inhibată de ATP (80, 81), fapt care ne îndreptățește să presupunem că în eventualitatea creșterii intracelulare a ADP urmată de scăderea activității CS, antrenarea acetil CoA pe calea energogenă a ciclului Krebs nu este posibilă. Totuși o serie de fapte contrazic această seducătoare ipoteză și îngreuiază descifrarea reglării intracelulare a biosintezei AG (inhibiția CS de către ADP (81), inhibiția fosfofructokinazei de către ATP și citrat (42).

Oricum am privi faptele, în ultimă instanță este vorba de controlul adenilic al disponibilității substratului (acetil CoA), care în primul rînd trebuie să satureze ciclul Krebs și numai ulterior se va angaja în biosinteza acizilor grași (42).

Scanned with OKEN Scanner

b) *Reglarea biosintezei acizilor graşi de către produsul final*

Anumite fapte rezultă din experienţe pe animale sau cercetări la om, în stări normale, inaniţie sau diabet zaharat, au îndreptăţit afirmaţia că între lipide şi biosinteza AG, din punct de vedere cantitativ, există o relaţie bazată pe un sistem reglator de tip *feed-back* negativ în care elementul limitant este produsul final. În cazul biosintezei acizilor graşi sînt contradicţii asupra existenţei acestui mecanism reglator, datorită incertitudinilor referitoare la natura produsului final al AG (AG liber sau esterificat cu CoA). Recent, Muto şi Gibson (82) demonstrează că AGL, imediat după formarea în ţesuturi, sînt activaţi şi esterificaţi formînd produşi acil CoA pentru a fi înglobaţi în lipidele neutre.

Efectul inhibant al produşilor acil CoA asupra propriei lor biosinteze se poate exercita astfel :

— la nivelul reacţiilor catalizate de citrat sintetază, Ac CoA Cbx şi SAG (83) ;

— cît şi la nivelul enzimelor care, prin reacţiile catalizate, formează echivalenţi reductori, prototipul fiind glucozo-6-fosfat-dehidrogenaza (84).

c) *Controlul genetic al biosintezei AG saturaţi*

Este un mecanism reglator, dovedit de o serie de experimente pe animale. Din nefericire, modalitatea intimă de control încă nu este elucidată.

B. BIOSINTEZA MITOCONDRIALĂ ŞI MICROSOMIALĂ A ACIZILOR GRAŞI SATURAŢI

Organismele animale pot sintetiza AG saturaţi şi în mitocondrii sau microsomi, afirmaţie susţinută de numeroase experimente (85—87).

În mitocondrii. Sinteza AG saturaţi are loc prin alungirea catenei unor AG preexistenţi, comportînd inversarea reacţiilor betaoxidării AG, conform reacţiei generale (3) :

$$R.\ CH_2—CO—S—CoA + CH_3CO—S—CoA + NADPH^+ + NADH^+ + 2H \longrightarrow$$

$$R.\ CH_2—CH_2—CH_2—CO—S—CoA + NAD + NADP + CoA—SH$$

Unitatea activă de condensare este acetil CoA care se uneşte cu acil CoA (42) pentru a forma un beta-cetoacil ; acesta este redus la beta-hidroxiacil care este dehidratat pînă la formarea unui produs nesaturat acil CoA. Acesta este redus, apărînd astfel acidul gras saturat. Sistemul enzimatic răspunzător de acest tip de biosinteze este format, în cazul primelor trei reacţii, de aceleaşi enzime care catalizează beta-oxidarea AG : beta-cetoacil-tiolază, beta-hidroxiacil-CoA-dehidrogenază şi enoil-CoA-hidrataza. Reducerea finală este efectuată de enoil-CoA-reductaza (enzimă NADPH dependentă), fapt care conferă acestui tip de biosinteză a AG un puternic caracter reductor. Principalul AG saturat care se formează în mitocondrii este acidul stearic.

În mitocondrii s-a demonstrat şi posibilitatea biosintezei AG saturaţi pe o cale malonil CoA dependentă (42), dar faptele necesită confirmări.

Scanned with OKEN Scanner

În microsomi. Unitatea activă de condensare este malonil CoA (88). Enzimele catalizante ale reacțiilor, cît și semnificația acestei căi de sinteză, la om nu este elucidată.

REGLAREA INTRACELULARĂ A BIOSINTEZEI AG SATURAȚI PRIN ALUNGIREA CATENEI

Pregnantul caracter reductor al biosintezei AG saturați prin alungirea catenei presupune o reglare intracelulară, efectuată în special de potențialul redox-mitocondrial, dependentă la rîndul său de starea energetică intracelulară (42).

Elementul esențial reglator este momentul angajării acetil CoA pe calea energogenă, imediată a ciclului Krebs sau pe calea condensării cu primerii acil CoA (Cn). O concentrație crescută a $NADPH^+$, indusă de funcționalitatea lanțului citocromic și sistemul adenilic, deplasează reacțiile spre sinteză, în timp ce scăderea concentrației $NADPH^+$ crește funcționalitatea ciclului Krebs (42).

După Donaldson (89), 50% din AG saturați sînt sintetizați în citoplasmă.

C. BIOSINTEZA ACIZILOR GRAȘI NESATURAȚI

Mamiferele pot sintetiza AG nesaturați monoetenici (43), dintre care exemplul elocvent îl reprezintă formarea acidului oleic din acid stearic (3). Aceasta presupune formarea unei duble legături la o anumită distanță din grupul carboxil fără efectuarea lungimii lanțului. Enzima care efectuează acest proces necesită oxigen, $NADPH^+$ și acil CoA (3).

Acizii grași nesaturați polietenici intră în secvența „input" numai prin aport alimentar.

I.3.4. SECVENȚA „OUTPUT" A METABOLISMULUI ACIZILOR GRAȘI

Secvența „output" a metabolismului AG cuprinde degradarea lor oxidativă, depozitarea în țesutul adipos sub formă de trigliceride, participarea la cetogeneză sau sinteza TG, FL, LP. În sistematizarea noastră, obiectul acestui capitol îl formează numai degradarea oxidativă energogenă. Aceasta este diferențiată în funcție de tipul AG sau de poziția carbonului oxidat ; în felul acesta distingem : beta-oxidarea AG saturați sau nesaturați cu număr de carbon par sau impar, ω oxidare și δ oxidare.

Oxidarea AG, în special beta, este de o importanță majoră în energogeneză atît în cursul degradării propriu-zise a AG, respectiv pînă la acetil CoA, cît mai ales prin introducerea fragmentelor C_2 active în ciclul Krebs.

Descifrarea etapelor beta-oxidării a fost posibilă grație lucrărilor de pionerat ale lui Knoop de la începutul acestui secol, confirmate și completate în chip strălucit 50 de ani mai tîrziu, de către Lipmann,

Scanned with OKEN Scanner

Lynnen, Reichert, Green, Ochoa, Wakil (2). Şcolii lui Lynnen, în special biochimia, îi este recunoscătoare pentru excepţionalele contribuţii aduse în acest domeniu, dintre care, sub raport teoretic, „helixul" este cel mai cunoscut.

A. BETA-OXIDAREA ACIZILOR GRAŞI

Degradarea beta-oxidativă a AG saturaţi are loc în etape succesive. În cadrul fiecărei etape, se produce oxidarea „CH_2" din poziţia beta faţă de carboxil, avînd ca rezultat scurtarea cu 2 atomi de carbon a lanţului AG şi formarea de acetil CoA. Fenomenele se repetă, punctul de plecare fiind AG saturat nou format care, de data aceasta, are N-2 atomi de carbon. Numărul etapelor următoare depinde de lungimea lanţului AG saturat iniţial, cît şi de necesităţile energetice sau plastice. În accepţiunea unei degradări oxidative totale, produşii finali sînt, pe de o parte, acidul benzoic (în cazul AGS cu număr impar de atomi de carbon), iar pe de altă parte, multe molecule de acetil CoA. Acestea sînt introduse în ciclul Krebs unde sînt oxidate energogen pînă la CO_2 şi H_2O (2, 3, 43). În figura I.33. este redată schema generală a beta-oxidării AG saturaţi.

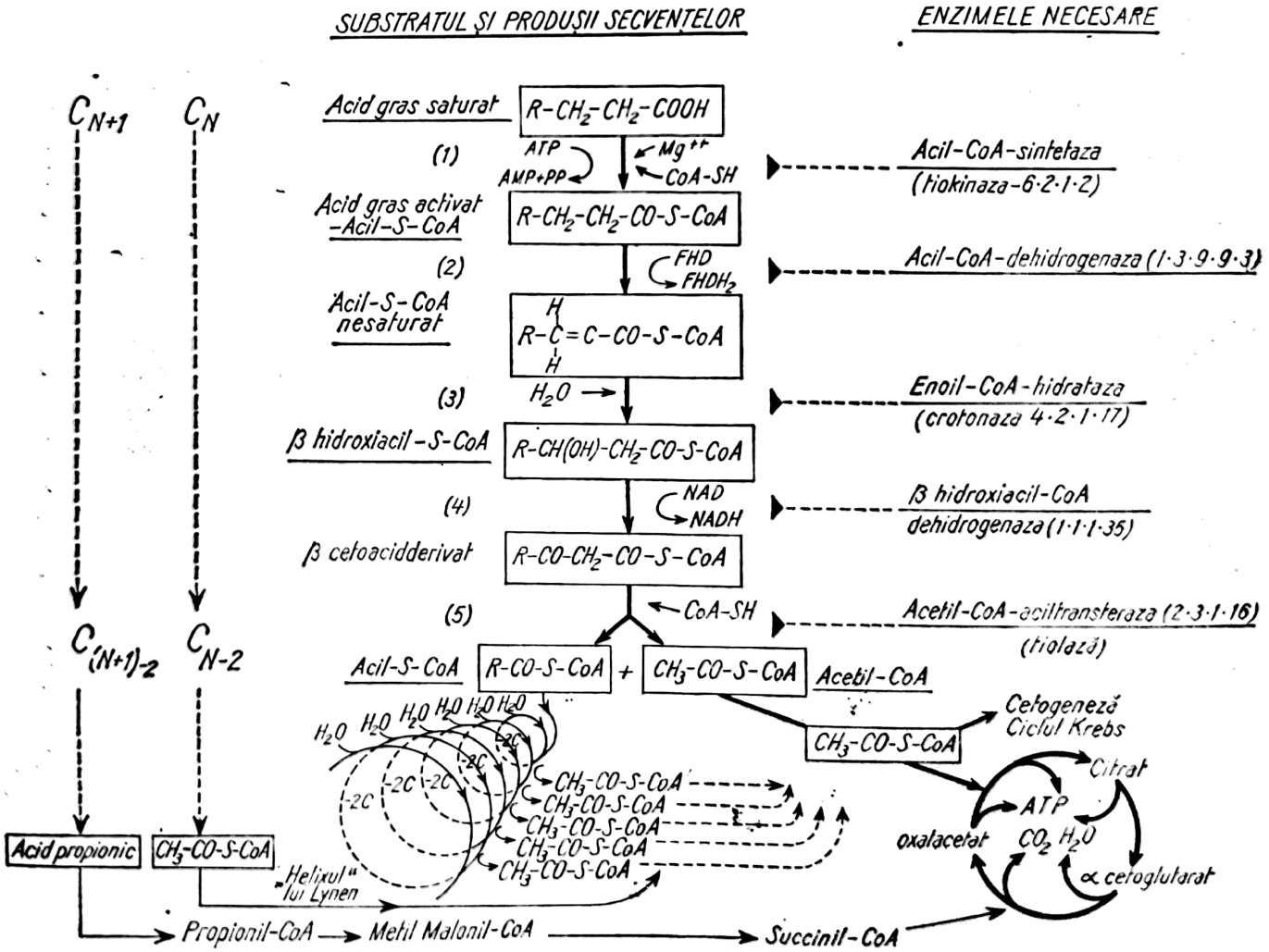


Fig. I.33. — Schema generală a betaoxidării acizilor graşi saturaţi.

ANALIZA SECVENȚIALĂ A DEGRADĂRII BETA-OXIDATIVE A ACIZILOR GRAȘI SATURAȚI

Angajarea AG nou sintetizat pe una din căile metabolice cunoscute (beta-oxidare, esterificare, alungirea, desaturarea sau ramificarea catenei) presupune „ab initio" activarea cu formarea de compuși acil-S-CoA (secvența 1). Sub această formă compusul activat care se unește cu carnitina este transferat în mitocondrie, unde se succed celelalte secvențe ale etapelor degradării oxidative. Inițial, AGS activat este dehidrogenat alfa apoi beta formîndu-se un produs de tipul acil-S-CoA nesaturat (secvența 2), care este imediat hidratat (secvența 3), produsul rezultat fiind beta-hidroxiacil-S-CoA ; acesta este oxidat (dehidrogenat), rezultînd un beta-ceto derivat (secvența 4). În cursul ultimei reacții (secvența 5), beta-ceto derivatul este scindat în acetil CoA (C_2 active) și acil-S-CoA, care este de fapt un acid gras nesaturat scurtat cu 2 carboni față de AGS inițial saturat.

În realitate, secvențele de mai sus sînt mult mai complexe, datorită variabilității posibilităților de activare a acidului gras saturat, a specificității și variabilității sistemului enzimatic, precum și datorită problemelor ridicate de transportul transmembranaro-mitocondrial al acil CoA.

a) *Activarea acizilor grași.* Este o secvență importantă în metabolismul AG saturați. Ea se produce pe trei căi :

— activarea ATP dependentă, care se efectuează prin intervenția acil — CoA — sintetazelor în funcție de lungimea catenelor AG asupra cărora acționează. Aceste enzime sînt în număr de trei, fiind localizate în microsomi (90) și mitocondrii. (Berg și Mahler, citat de 32) ;

— activarea GTP dependentă (se produce datorită unei acil-CoA sintetaze GTP dependente, izolată în mitocondrii) ;

— activarea dependentă de intermediari macroergici nefosforilați (91) demonstrată experimental, dar cu o semnificație neclară.

Din punct de vedere cantitativ, importanța cea mai mare în activarea AG revine căii ATP dependente.

S-a presupus ca secvența activării AG în cadrul beta-oxidării este limitantă (92) ; ulterior, s-a infirmat acest lucru.

b) *Enzimele necesare beta-oxidării.* În figura I.33 sînt notate grupurile enzimatice responsabile de cataliza reacțiilor degradative după activarea AG.

— *Acil-dehidrogenazele (flavoproteide)* — în număr de trei acționează fără a necesita prezența NAD^+ sau $NADP^+$:

— FAD : G : acționează asupra C_4—C_8 ;

— FAD : Y : acționează asupra C_8—C_{12} ;

— FAD : Y' : acționează asupra C_8—C_{12} ;

— *enol-hidraza* (crotonaza) — acționează asupra tuturor produșilor acil-S-CoA nesaturați cu lungimea lanțului C_8—C_{18} pentru a forma produși beta-hidroxiacizi (3) ;

— *beta-hidroxiacil dehidrogenaza* are o înaltă specificitate pentru NAD^+, fără a fi afectată de lungimea lanțului (3) ;

Scanned with OKEN Scanner

— *ceto-acil-tiolaza* (tiolaza) acţionează în prezenţa CoA—SH asupra lanţurilor C_4—C_{18} pe care le scurtează cu cîte doi atomi de carbon prin formarea acetil-S-CoA (3).

c) *Transportul transmembranaro-mitocondrial.* Membrana mitocondrială este impermeabilă atît pentru acetil CoA, cît şi pentru AG saturaţi cu lanţ lung (cu atomi de carbon peste 10). Datorită acestui fapt, problema pasajului acestor produşi din mitocondrii în citoplasmă în cazul biosintezei AG, sau din citoplasmă în mitocondrii în cazul beta-oxidării, este de o mare importanţă în metabolismul lipidic. În ambele circumstanţe, dar, mai ales, în cea de-a doua, pentru facilitatea transportului, intervine un sistem enzimatic numit sistem carnitinic. Carnitina este beta-hidroxi-y-butirobetaină (3): $(CH_3)_3$-N-CH_2-CH_2-CH(OH)-CH_2-COOH.

Aceasta, împreună cu acidul gras saturat activat şi carnitin-aciltransferaza, formează acil-carnitina (3). Reacţia are loc pe faţa externă a membranei mitocondriale; graţie ei, produsul rezultat — acil-carnitina — fiind permeabil pentru membrană, pătrunde în mitocondrie. Pe faţa internă a membranei mitocondriale acil-carnitina este reconvertită în

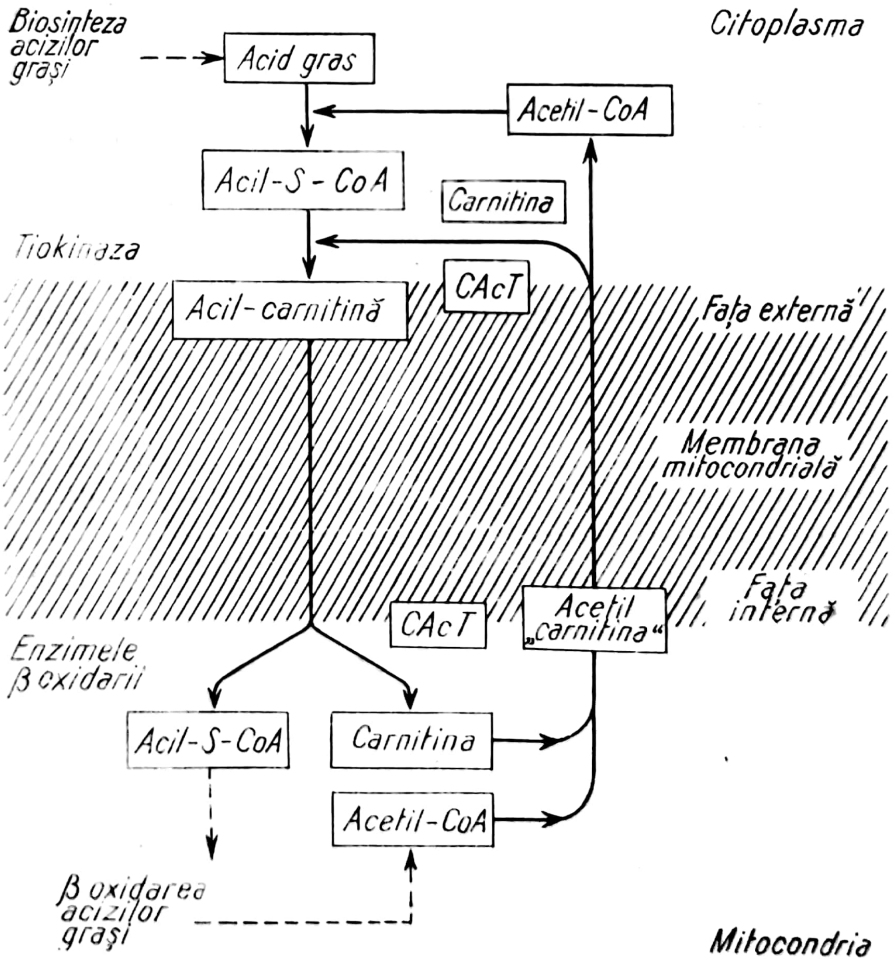


Fig. I.34. — **Rolul carnitinei în pasajul transmembranaro-mitocondrial al acetil-CoA şi acizilor graşi activaţi, cu lanţ lung (mai mare de 10 atomi de carbon) (acil-S-CoA); CAcT = carnitin-aciltransferaza.**

acil-S-CoA şi carnitină. Carnitina se va uni cu acetil CoA intramitocondrială şi transportată în citoplasmă ; rezultă acetil-carnitina, reacţia fiind catalizată de aceeaşi enzimă. În citoplasmă, acetil-carnitina se transformă în carnitină şi acetil CoA. Importanţa acestui ciclu în transportul transmembranaro-mitocondrial este subliniată de mulţi autori în experimente efectuate pe animale (93, 94, 96, 97).

Funcţionalitatea sistemului carnitinic este în strînsă corelaţie cu distribuţia intracelulară a enzimelor necesare activării sau beta-oxidării (fig. I.34). Astfel, acil-CoA-sintetazele (tiokinazele) sînt repartizate pe faţa externă a membranei mitocondriale (98), în timp ce enzimele beta-oxidante propriu-zise se găsesc pe faţa internă a membranei mitocondriale (42).

OXIDAREA AG SATURAŢI CU NUMĂR IMPAR DE ATOMI DE CARBON

Există multe scheme propuse pentru oxidarea AG.

Reproducem în fig. I.35. calea degradativă a acidului propionic.

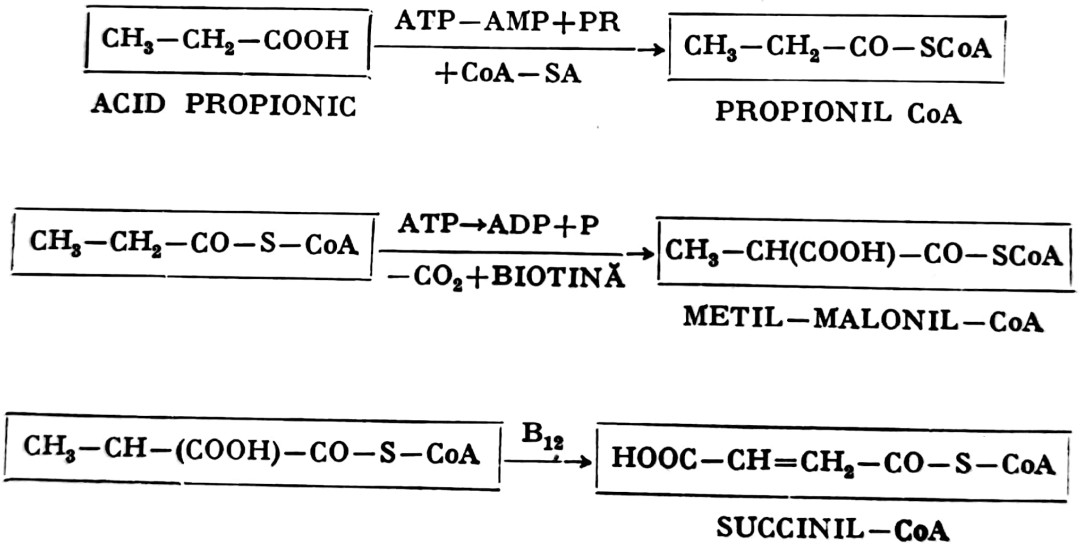


Fig. I.35. — Oxidarea acizilor graşi saturaţi cu număr impar al atomilor de carbon — după **Mazzur şi Harrow, 3.**

OXIDAREA AG NESATURAŢI

Luînd ca exemplu acidul linolenic cu trei duble legături, deosebim următoarele reacţii (2) (fig. I.36.) : în primele secvenţe, prin ruperea succesivă a trei molecule de acetil CoA, se formează dodecatrienoil care, prin dehidrogenare, se transformă într-un acid gras nesaturat alfa-beta. O izomerază converteşte acest ultim compus, în formă nesaturată beta-alfa care, prin hidratare sub influenţa etilen-hidratazelor şi continuarea oxidării, ajunge în cele din urmă la acetil CoA şi propionil CoA.

Scanned with OKEN Scanner

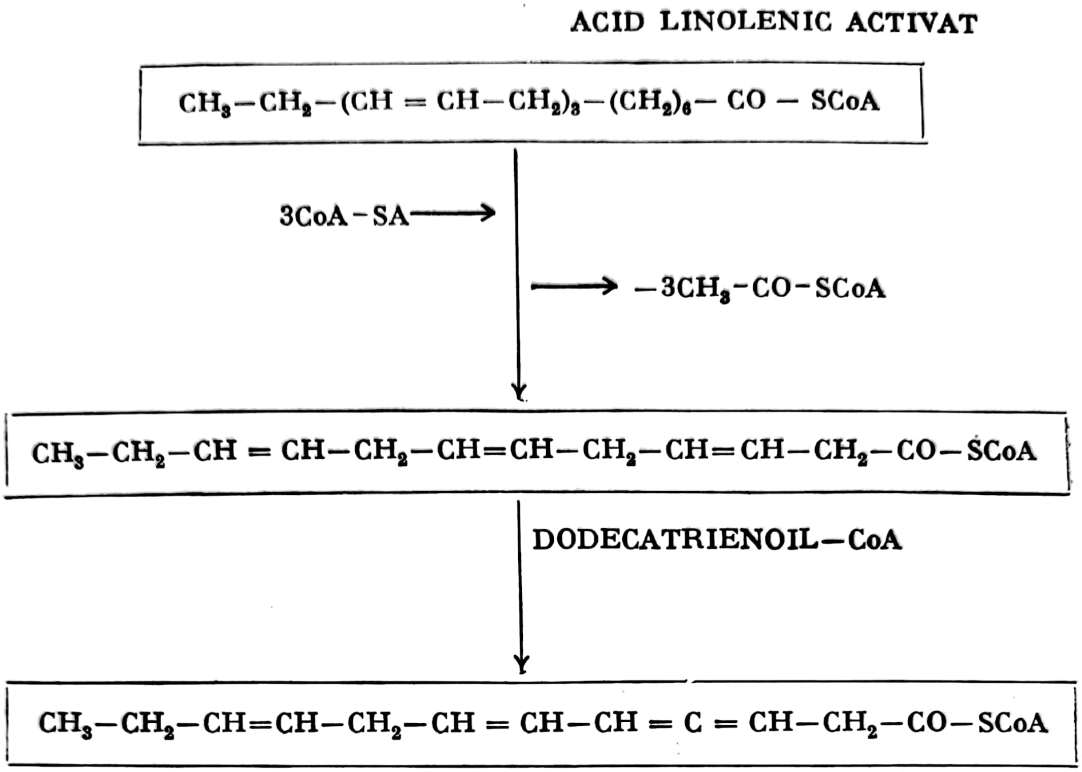


Fig. I.36. — Reprezentarea parţială a oxidării acidului linolenic — după Manta, 2.

B. ω OXIDAREA ŞI δ OXIDAREA ACIZILOR GRAŞI

Unii acizi graşi sînt oxidaţi în poziţia δ (la capătul opus carboxilul) ; diacilul format este, în continuare, beta-oxidat (Verkade — citat de 2) ajungîndu-se în cele din urmă la acid succinic. Microsomii din ficatul mamiferelor (3) sînt capabili de următoarele transformări pe această cale :

Acid decanoic ⟶ acid 10 hidroxidecanoic ⟶ acid sebaceic
Acid stearic ⟶ acid octadeca 1,18 dioic
Acid oleic ⟶ acid 9 octadeca 1,18 dioic
Acid palmitic ⟶ acid hexadeca 1,16 dioic

S-a demonstrat că unii AG saturaţi din lapte sau din glanda mamară la mamifere pot fi oxidaţi în poziţie delta, conform schemei din fig. I.37. (99). Acidul gras activat este dehidrogenat (secvenţa 1) de către aceleaşi enzime care operează în cazul beta-oxidării, pentru a forma un derivat acil CoA-nesaturat ; acesta este hidratat, ajungîndu-se la produşii y şi δ şi hidroxiacil-CoA ; acest ultim produs este oxidat (secvenţa 3) pînă la oxoacil CoA care, în continuare (secvenţa 4), este clivat în acil CoA şi butiril CoA. Butiril CoA poate participa la sinteza TG din lapte în glanda mamară (99).

Nu se cunosc date legate de aspectele cantitative ale acestei căi oxidative.

Scanned with OKEN Scanner

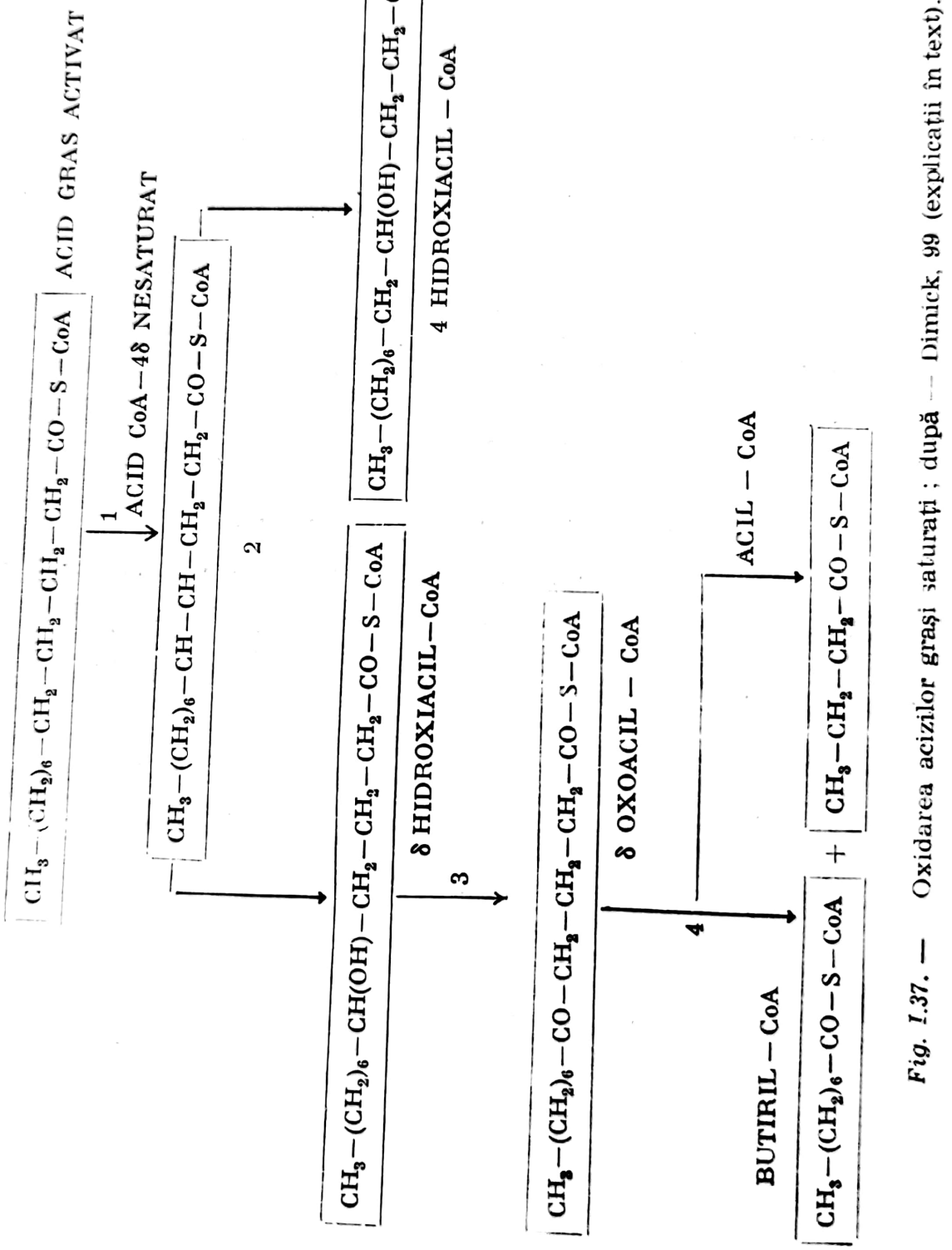


Fig. 1.37. — Oxidarea acizilor graşi saturaţi ; după — Dimick, 99 (explicaţii în text).

C. REGLAREA INTRACELULARĂ A BETA-OXIDĂRII AG

Beta-oxidarea AG este o cale metabolică care din punctul de vedere al reglării sale intracelulare are un comportament cu totul special, legat neîndoielnic de funcţia sa energogenă. Pînă în prezent se poate afirma că, probabil, tiokinazele şi, sigur, acil-carnitin-transferazele sînt enzime limitante, la care, deci, ar fi posibil un control. Celelalte enzime propriu-zise ale beta-oxidării nu sînt supuse vreunui control intracelular (42).

Studiile asupra acil-carnitin-transferazei ne îndreptăţesc să afirmăm că de fapt aceasta este o „permează" care reglează pătrunderea substratului beta-oxidării, adică a AG în mitocondrii (42, 97). Variaţia activităţii ei în diferite stări patologice este o mărturie în acest sens.

Singurul element capabil de a influenţa degradarea beta-oxidativă a AG este accesibilitatea substratului AG (), în funcţie de necesităţile energetice. Un aport crescut de glucoză reduce la minimum beta-oxidarea fără a o suprima. Creşterea beta-oxidării AG se produce fie în momentul scăderii concentraţiei glucozei în ţesuturi sub o anumită limită, fie prin simpla creştere a concentraţiei AG care, competitiv cu glucoza, sînt preferaţi în energogeneză (42).

I.3.5. CORPII CETONICI

Deşi sînt aduşi în discuţie mai mult în legătură cu stările patologice de cetoză, corpii cetonici (acetoacetatul beta-hidroxibutiratul şi acetona) au căi metabolice bine definite cu mecanisme reglatorii proprii, operante deosebit de eficient şi în stările normale. Profilul lucrării noastre nu ne permite abordarea acestui subiect decît rezumativ.

A. CETOGENEZA

Principala cale cetogenă în corpul uman este redată în figura I.38. Condensarea a două molecule de acetil CoA sub influenţa Ac AcCoA tiolazei (secvenţa 1) este urmată de formarea aceto-acetil-CoA care se uneşte cu o nouă moleculă de acetil CoA (secvenţa 2) avînd ca rezultat betahidroxi-betametil-CoA reacţie catalizată de HMG-sinteza. O nouă enzimă, HMG-liaza, transformă acest ultim produs în aceto-acetat (secvenţa 3), primul corp cetonic în lanţul sintezelor, de la care, prin dehidrogenare (secvenţa 4) şi/sau decarboxilare (tot secvenţa 4), se formează D (—) beta-hidroxibutirat şi/sau acetona. Enzimele răspunzătoare de aceste ultime două reacţii sînt : beta-hidroxibutirat-dehidrogenaza şi aceton-decarboxilaza (2, 3, 43, 100, 101). Primele trei enzime (secvenţele 1, 2, 3) sînt localizate în mitocondria hepatică şi numai o mică proporţie sînt evidenţiate în fracţia extramitocondrială (102). Faptul prezintă importanţă în special pentru stările caracterizate printr-o sinteză citoplasmatică scăzută a AG, sau în circumstanţele în care acetil CoA se angajează pe calea colesterologenezei (103). HMG-CoA-sintetaza, comparativ cu celelalte enzime, are cea mai redusă activitate (102).

Scanned with OKEN Scanner

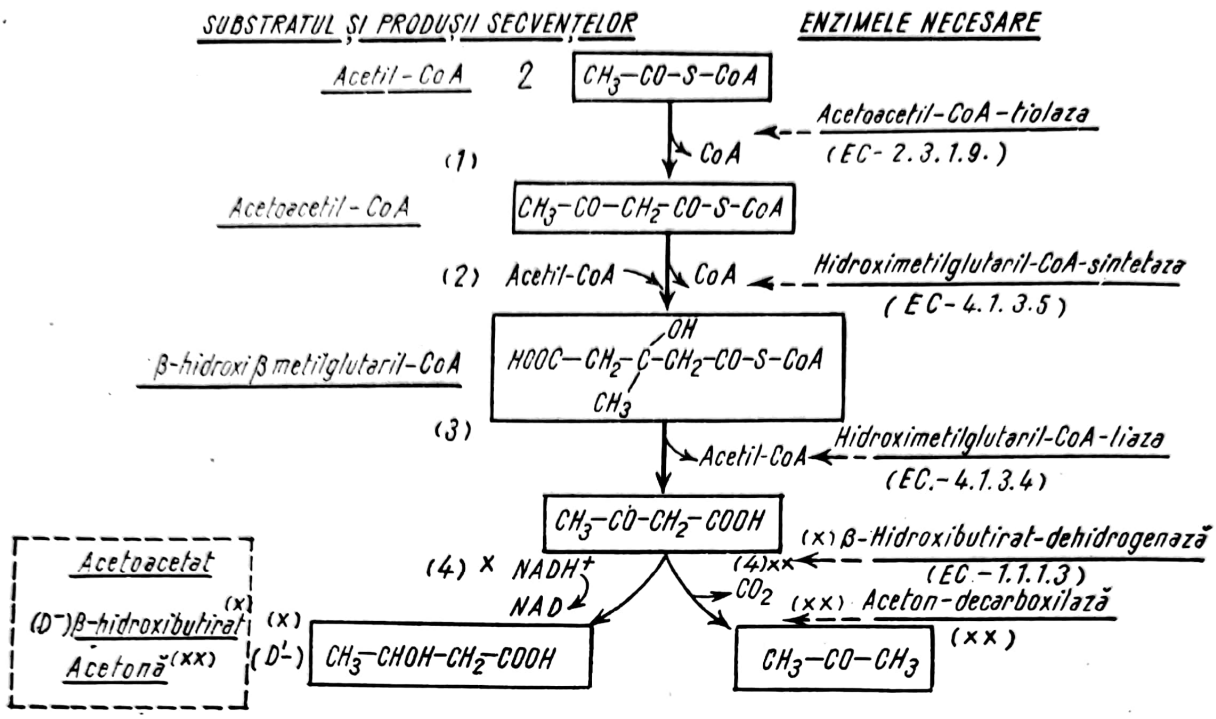


Fig. I.38. — Cetogeneza calea betahidroxi-betametilglutaril-CoA.

Cetogeneza în corpul uman se produce aproape exclusiv în ficat. În afara acestei căi cetogene s-a demonstrat experimental posibilitatea deacilării directe a aceto-acetil-CoA, sub influența aceto-acetil-CoA deacilazei, avînd ca rezultat aceto-acetatul (104). Unii autori contestă posibilitatea primordialității cantitative a cetogenezei pe această cale (105).

REGLAREA INTRACELULARĂ A CETOGENEZEI

A fost elucidată în ultimii ani și este legată în special de stările de cetoză prin hipercetogeneză, fiind în strînsă legătură și cu factorii neurohormonali. (Se va detalia în capitolul III).

B. OXIDAREA CORPILOR CETONICI

Oxidarea corpilor cetonici are loc în mitocondriile țesuturilor extrahepatice, locul unde există o dotare enzimatică corespunzătoare (2, 3, 42, 100, 101). În figura I.39. este schematizată calea degradării oxidative a aceto-acetatului D (—) betahidroxi-butiratului care, inițial, se transformă în aceto-acetil sub influența beta-HOH-dehidrogenazei. Prima secvență oxidativă este reprezentată de activarea aceto-acetatului și formarea aceto-acetil-CoA, proces care are loc pe două căi :

— prima cale de activare se produce sub influența CoA ATP, Mg^{++}, fiind catalizată de aceto-acetil-tiokinaza ;

— a doua cale, cea mai cunoscută și mai importantă din punct de vedere cantitativ, activează aceto-acetatul prin cuplarea cu succinil CoA,

Scanned with OKEN Scanner

sub influența aceto-acetat-succinat-tiaforazei. Aceto-acetil-CoA împreună cu CoA generează două molecule de acetil CoA, care sînt introduse în ciclul Krebs.

Acetona se poate oxida pînă la acid acetic și acid formic, sau se convertește în acid lactic și piruvic.

REGLAREA INTRACELULARĂ A OXIDĂRII CORPILOR CETONICI

Etapa „controlabilă" a oxidării corpilor cetonici este activarea aceto-acetatului (42). În acest sens, prima cale de activare este influențată de aceto-acetat-tiochinaza și aceto-acetat-carnitintransferaza. A doua cale de activare este dependentă de ciclul Krebs (sistemul succinil CoA-succinat). Constă mai ales în posibilitatea sustragerii succinil CoA din calea generării GTP din GDP. În ultimă instanță este vorba de un control adenilic al oxidării corpilor cetonici (42).

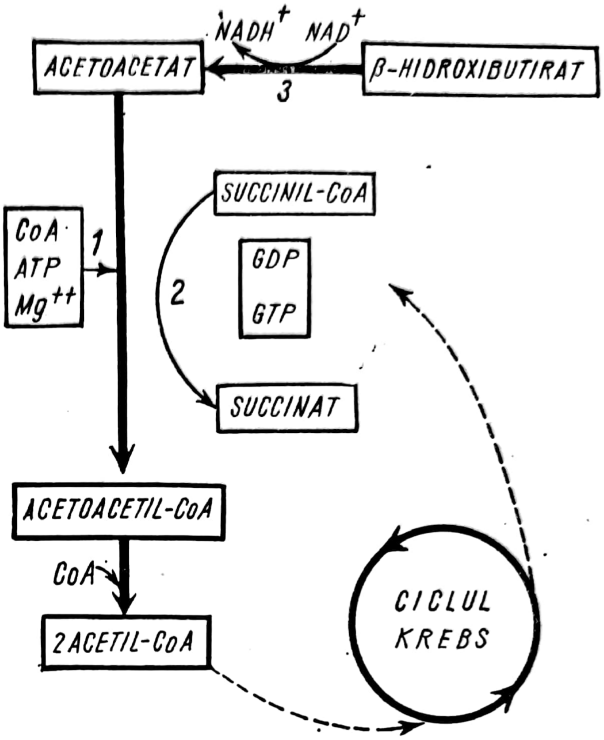


Fig. I.39. — Oxidarea acetoacetatului și a D (—) beta-hidroxibutiratului, cifrele reprezintă locul de acțiune al acetoacetil-tiokinazei (1), acetoacetilsuccinat-tiaforazei (EC—2.8.3.5) și, respectiv, beta-OH-beta-dehidrogenaza (3).

C. SEMNIFICAȚIA FUNCȚIONALĂ A METABOLISMULUI CORPILOR CETONICI

Cetogeneza hepatică și cetoliza extrahepatică sînt legate de energogeneză. Prima cale metabolică reprezintă o modalitate de sinteză a unor produși cu potențial energogen foarte important pentru țesuturile extrahepatice în anumite circumstanțe (42). Cetoliza este etapa energogenă finală, adică oxidarea corpilor cetonici pînă la CO_2 și H_2O în ciclul Krebs. Aspectele energetice legate de corpii cetonici vor fi discutate în alte capitole.

I.3.6. TRIGLICERIDELE

GENERALITĂȚI

Trigliceridele (triacilgliceroli) sau grăsimi neutre sînt de fapt veritabilele lipide tisulare sau plasmatice din corpul omenesc, fiind esteri ai AG cu glicerolul după formula din figura I.40. Grupările alcoolice

Scanned with OKEN Scanner

ale glicerolului pot fi esterificate total (trigliceride), sau parţial (mono- sau digliceride) cu AG saturaţi sau nesaturaţi. În grăsimea umană întîlnim, în cea mai mare parte, gliceride mixte (amestec de mono-, di- şi trigliceride) în care predomină AG nesaturaţi, oleic, linoleic şi linolenic (1, 2, 3, 4). Nomenclatura gliceridelor presupune o marcare a carbonu-

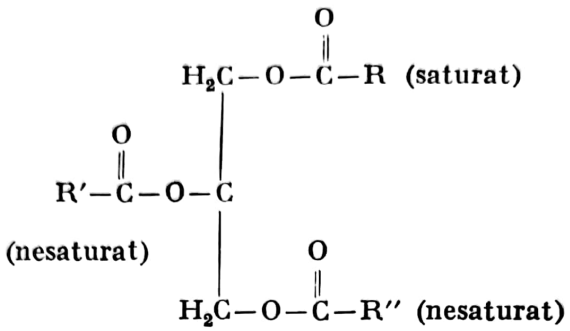


Fig. I.40. — Formula generală a trigliceridelor, esterificarea grupărilor alcoolice ale glicerolului se poate face cu acizi graşi saturaţi sau nesaturaţi, total (trigliceride) sau parţial (mono- sau digliceride) — după Mazzur şi Harrow, 3.

lui central din poziţia a doua a glicerolului cu beta, ceilalţi doi carboni fiind alfa (poziţia 1) şi alfa' (poziţia 3). În figura I.41. este prezentat un exemplu în acest sens. Remarcăm prezenţa sufixului „ină" la denumirea ultimului AG (1).

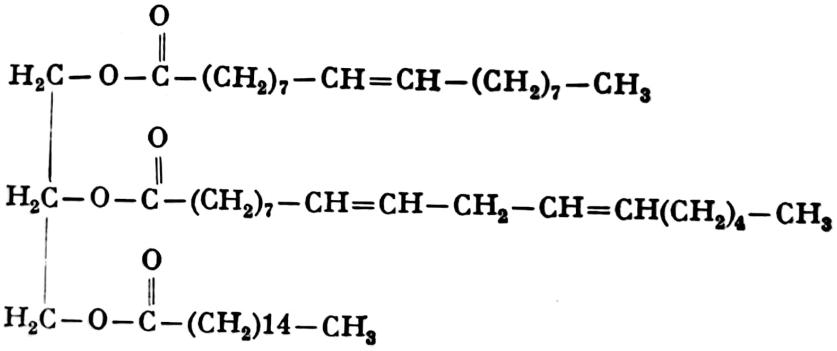


Fig. I.41. — Betalinoleo, α-α'oleopalmitină sau 2 linoleo, 1—3 oleopalmitină — după Brown, 1.

Metabolismul TG este extrem de complex, fiind intim conexat cu metabolismul AG, hidraţilor de carbon şi lipoproteinelor, care de fapt reprezintă forma lor de transport plasmatic. În figura I.42. reprezentăm schematic ipoteza compartimentării generale a metabolismului TG în cadrul conceptului „input-output". Secvenţa „input" este formată din procesele absorbtive ale TG şi biosinteza TG endogene. Secvenţa „output" presupune lipoliza TG cu formarea AGL, cît şi orientarea TG spre sinteza LP. Dinamica TG din LP sub influenţa LPL formează

Scanned with OKEN Scanner

obiectul unui alt capitol. Această compartimentare vizează multe organe dintre care intestinul, ficatul, ţesutul adipos şi muşchii sînt de cea mai mare importanţă.

Compartimentarea intimă a TG („*pool*-urile" TG umane) este schematizată în figura I.20, fiind în mare parte dependentă de *pool*-urile LP şi AGL. Transportul lor are loc în exclusivitate sub forma L.P. Iată de ce cinetica TG este abordată împreună cu cinetica LP. În cazul AGL s-a opiniat pentru tratarea lor separată deoarece transportul este independent de LP.

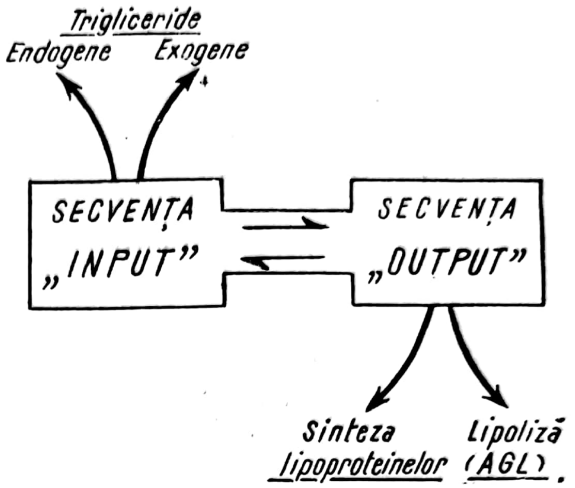


Fig. I.42. — Compartimentarea generală a metabolismului trigliceridelor în cadrul conceptului „input-output".

I.3.7. SECVENŢA „INPUT" A METABOLISMULUI TRIGLICERIDELOR

Sinteza trigliceridelor are loc în mai multe etape (fig. I.43) (1, 2, 3, 106). Reacţia de bază este unirea acidului gras activat (acil-CoA) cu alfa glicerofosfatul, pentru a forma acidul fosfatidic, sub influenţa

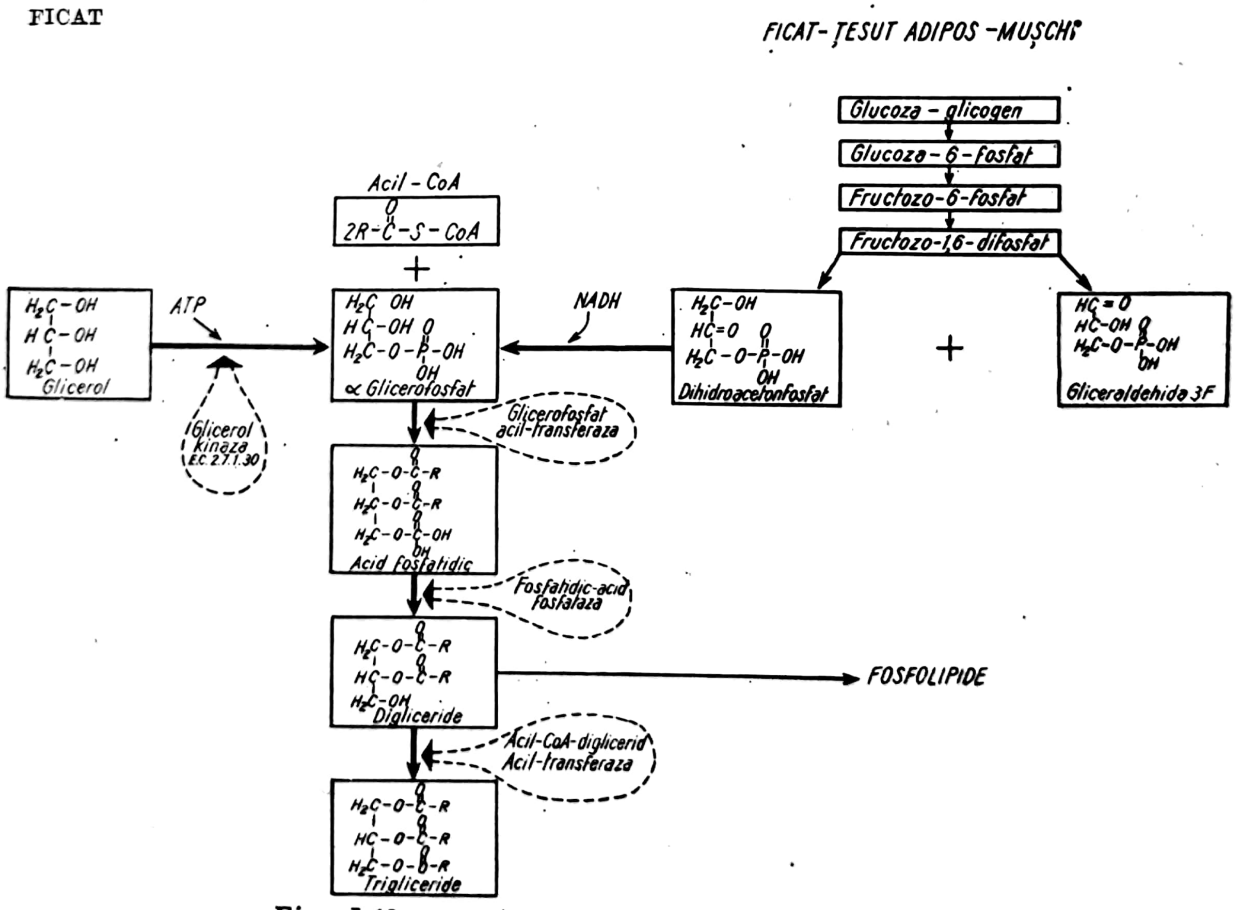


Fig. I.43. — Etapele sintezei trigliceridelor.

Scanned with OKEN Scanner

glicerofosfat-acil-transferazei. Alfa-glicerofosfatul poate fi produs fie ca rezultat al glicolizei adipocitare, hepatocitare sau musculare, calea dihidroxiacetonfosfat, fie în urma transformării directe a glicerolului (reacție catalizată de glicerolkinază în prezența ATP). Deoarece această enzimă se găsește practic numai în ficat, se înțelege că acest mod de formare a alfa-GF este posibil numai aici.

Acidul fosfatidic, sub influența fosfatidic acid fosfatazei, se transformă în digliceridă. În continuare, aceasta poate lua două căi : pe de o parte participă la sinteza fosfolipidelor, iar pe de altă parte, prin cuplarea cu un nou acid gras activat și în prezența acil-CoA-diglicerid-acil-transferazei generează trigliceridele.

Sistemele enzimatice, responsabile de aceste sinteze, se găsesc în microsomii celulelor organelor de mai sus, sînt termostabile și necesită ATP, Mn^{++} și CoA (106). Detalii asupra sintezei TG în ficat și țesutul adipos, precum și aspectele lor reglatorii vor fi tratate în capitolul VIII. Sinteza TG în intestin este detaliată în capitolul II.2.

I.3.8. SECVENȚA „OUTPUT" A METABOLISMULUI TRIGLICERIDELOR

„Ieșirile" TG din sistem au loc prin procesele de lipoliză sau prin introducerea lor în mecanismele sintezei lipoproteinelor. „Stricto sensu", termenul de lipoliză înmănunchiază totalitatea proceselor de hidroliză a TG avînd drept rezultat glicerolul și acizii grași respectivi. Fenomenele sînt predominant adipocitare. Ultimii ani au marcat o acumulare extraordinară de date referitoare la mecanismele lipolitice, aceasta datorită importanței lor deosebite în homeostazia energetică (1, 7, 8, 108, 109).

SECVENȚELE LIPOLIZEI

În figura I.44. sînt schematizate secvențele principale ale lipolizei intraadipocitare (106, 108—115). TG sînt transformate succesiv în digliceride, monogliceride, glicerol și trei molecule de acizi grași (1—3). Enzimele responsabile de această hidroliză în lanț sînt cunoscute sub numele de lipaze, ele fiind localizate în microsomi. În funcție de substrat, sensibilitatea la activatori, inhibitori, pH sau temperatura optimă de activare, deosebim trigliceridlipazele (E.C. 3.1.1.3) și monogliceridlipazele (E.C. 3.1.1.).

Trigliceridlipazele. Aceste enzime desfac legătura esterică din poziția alfa sau alfa'. Sînt hormono-sensibile, motiv pentru care joacă un rol cheie în procesele lipolitice. S-a reușit izolarea TG lipazei ce hidrolizează TG cu AG cu catenă lungă (C_{10}—C_{20}) și a TG lipazei ce acționează asupra TG cu AG cu catenă scurtă (110). Primul tip are rolul major în lipoliza intraadipocitară.

Scanned with OKEN Scanner

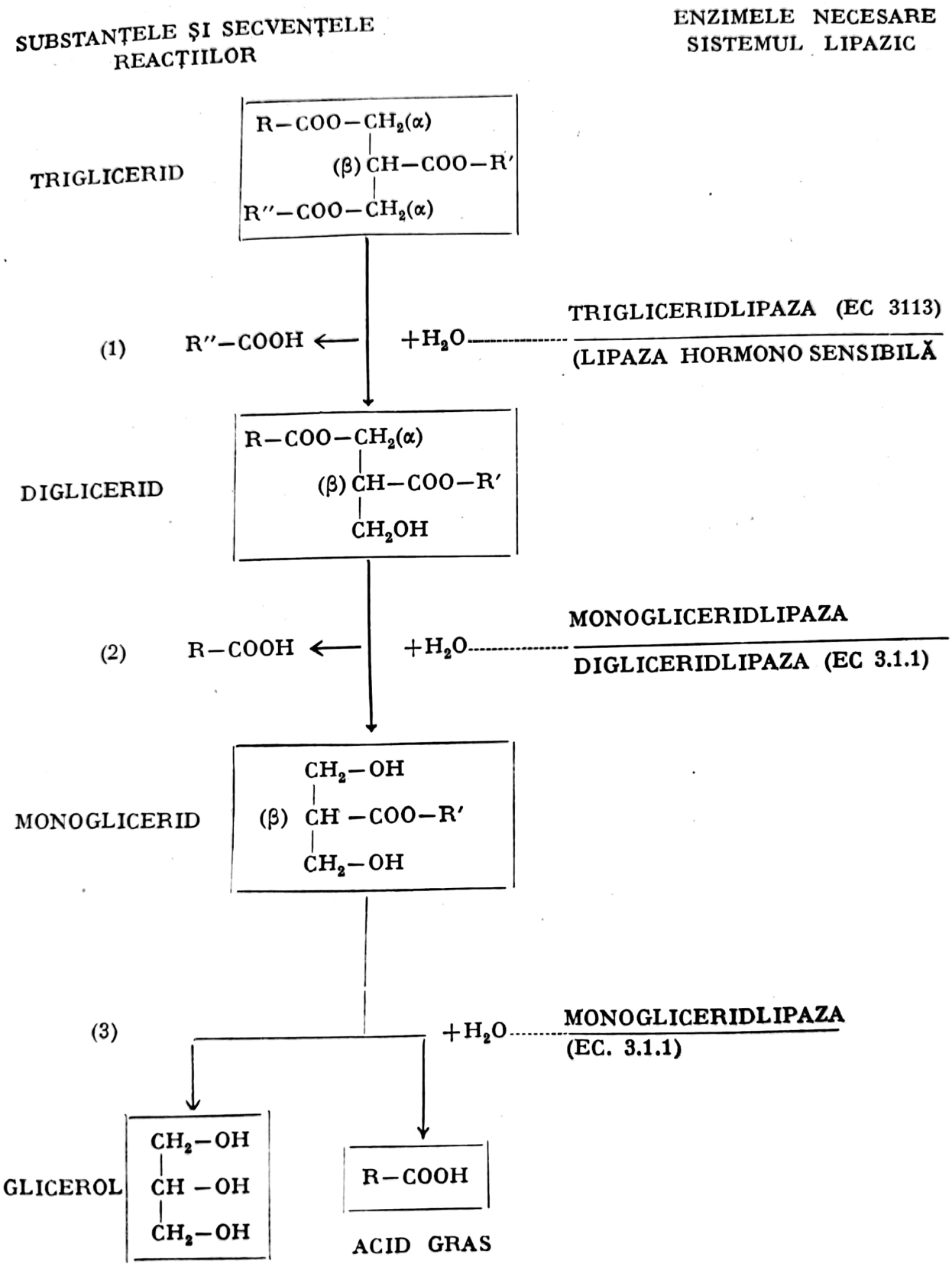


Fig. I.44. — Etapele principale ale hidrolizei trigliceridelor.

Scanned with OKEN Scanner

Monogliceridlipazele. Aceste enzime scindează în continuare digliceridele şi apoi monogliceridele. S-a presupus existenţa separată a unei diglicerid-lipaze şi a unei monoglicerid-lipaze hormonoinsensibile (112).

Activitatea lipolitică a fost evidenţiată şi în ţesuturile extraadipocitare : ficat, rinichi, inimă, diafragm, plămîn, splină (109), fără a avea intensitatea şi semnificaţia lipolizei intraadipocitare.

Maniera schematică în care am expus secvenţele lipolizei exclude însă mecanismele cele mai importante ale acestui proces, şi anume activarea sau inhibiţia TG lipazei. Ele vor constitui subiectul capitolului III.

I.3.9. INTEGRAREA METABOLISMULUI ACIZILOR GRAŞI ŞI AL TRIGLICERIDELOR

Între metabolismul AG şi TG, pe de o parte, şi al LP pe de altă parte, există o relaţie indestructibilă. Defalcarea şi apoi expunerea lor gradată sînt determinate de uşurarea cunoaşterii acestui capitol dificil. O privire integrativă nu numai că se impune, dar în cazul nostru va completa o serie de noţiuni omise deliberat pînă acum, cum ar fi : particularităţile topografice calitative şi cantitative sau aspectele energetice.

Metabolismul AG, TG corelat cu cel al glucozei şi LP este schematizat în figura I.45. În plasmă se găsesc transportori de TG endogene (VLDL de origine hepatică şi intestinală), sau de TG exogene (chilomicroni). Indiferent de sursă, TG sînt eliberate din LP graţie LPL. Pătrunderea lor în ţesutul adipos sub forma AGL este de cea mai mare importanţă energetică ; aici ele se pot depozita sau hidroliza eliberîndu-se astfel AGL care circulă în plasmă distributiv, preferenţial spre ţesutul muscular (în scop energetic), sau spre ficat unde participă la sinteza TG sau a LP. În felul acesta, ficatul şi ţesutul gras apar ca principale organe de metabolism al AG şi TG, iar muşchii, ca organe energoconsumatoare pe seama AG. Nu trebuie neglijat rolul peretelui intestinal în sinteza TG, colesterolului, VLDL şi mai ales metabolismul lipidic în peretele arterial, vizînd ateroscleroza. Din schemă a fost omisă glanda mamară a cărei activitate lipogenetică în lactaţie este foarte mare, dar fără a afecta în mod deosebit lipidele serice.

A. METABOLISMUL ACIZILOR GRAŞI ŞI AL TRIGLICERIDELOR ÎN FICAT

Cu excepţia cetolizei în ficat, sînt localizate toate căile metabolice ale AG şi TG. Deşi importanţa acestui organ în metabolismul lipidic a fost reevaluată concomitent cu reconsiderarea rolului ţesutului gras, el rămîne unul dintre organele centrale ale acestei căi metabolice, mai ales sub raport plastic.

Dispunem în prezent de mai multe metode de studiere a metabolismului lipidic în ficat :

— ţesut hepatic recoltat prin puncţie biopsie hepatică (117—120) ;

Scanned with OKEN Scanner

— feliile de țesut hepatic recoltate pe cale chirurgicală (121);
— ficatul izolat și perfuzat (122—124).

În timp ce primele două metode sînt aplicabile la om ficatul perfuzat este aplicabil numai la animale. Prelucrarea materialului obținut se face prin diferite metode chimice. Aspectele reglatorii metabolice sînt studiate în special prin diferite metode ale ficatului izolat și perfuzat.

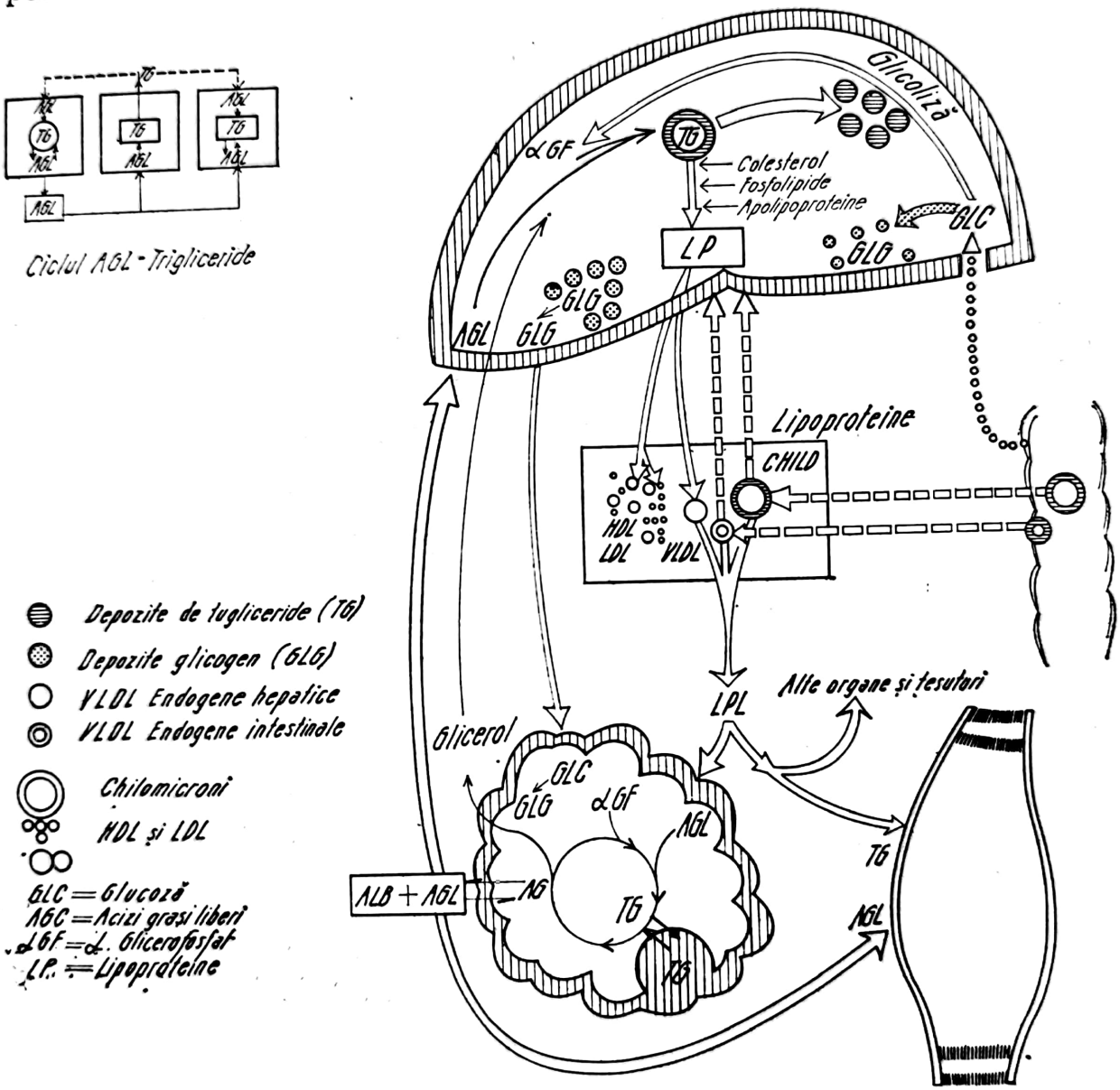


Fig. I.45. — Schema generală a metabolismului **AGL** și trigliceridelor.

COMPOZIȚIA ȚESUTULUI HEPATIC UMAN ÎN GLICERIDE ȘI ACIZI GRAȘI

În tabelul I.15 este redată compoziția țesutului hepatic uman în lipide (colesterol liber și esterificat, fosfolipide, TG și a unor AG din TG : miristic, palmitic, palitoleic, stearic, oleic, linoleic). Țesutul hepatic a fost prelevat prin PBH cu ac Menghini, de la subiecți aparent

sănătoşi (118). Se remarcă prezenţa în cantitate mare a fosfolipidelor (8,5—12,9 g/100 g ţesut hepatic uscat). Colesterolul esterificat se află în cantitatea cea mai redusă (0,18—0,9 g/100 g ţesut hepatic uscat), dar chiar împreună cu colesterolul liber (0,90—1,24 g/100 g ţesut hepatic uscat) nu depăşeşte concentraţia TG (1,6—2 g/100 g ţesut uscat).

Tabelul I.15

Compoziţia ţesutului hepatic uman în fosfolipide (FL), colesterol esterificat (CE) colesterol liber (CL), trigliceride (TG) şi a unor acizi graşi din trigliceride. Ţesutul hepatic a fost prelevat prin puncţie-biopsie hepatică de la subiecţi aparent sănătoşi (simplificat după Laurell şi Lundquist — 118)

Subiecţi	Lipide; g/100 g ţesut uscat				Acizi graşi; % din totalul TG					
	FL	CE	CL	TG	Miristic 14:0	Palmitic 16:	Palmitoleic 16:1	Stearic 18:0	Oleic 18:1	Linoleic 18:2
I	12,9	0,18	1,24	1,6	3,7	37,8	7,9	12,1	28,2	7,7
II	8,5	0,19	0,90	2	1,3	27,8	6,6	14	38	11,4

Dintre acizii graşi, acidul palmitic (27,8—37,8% din totalul TG hepatice) şi acidul oleic (28,2—38% din totalul TG hepatice) au cele mai crescute concentraţii. Acidul miristic se găseşte într-o concentraţie foarte redusă (1,3—3,7% din totalul TG hepatice). Studii asemănătoare au fost efectuate şi de alţi autori (125—127).

ORIGINEA AG ŞI TG DIN FICAT

AG din ficat au mai multe origini (106): AGL plasmatici proveniţi din hidroliza TG adipocitare, hepatocitare sau adipomezenterice, chilomicronilor, din VDL sau biosinteza lor „de novo" (fig. I.46). Oricare ar fi proveniența lor serică, experienţele pe ficat izolat şi perfuzat (122, 128—135) au demonstrat dependenţa captării AGL de concentraţia lor în lichidul perfuzat (raport direct proporţional). Captarea nu este influenţată de lungimea lanţului AG sau de gradul lor de desaturare (dacă AG sînt în cantităţi echimoleculare). Cantitatea AGL captaţi în ficatul perfuzat a fost apreciată la 27%, corespunzător unui singur pasaj şi la o concentraţie normală de AGL (137).

Biosinteza AG în ficat urmează căile descrise în subcapitolul I.3.5. Fenomenul a fost studiat, încă din anul 1940, (143) la animale şi la om (56) (137—143), de regulă comparativ cu lipogeneza intraadipocitară. Se apreciază (140, 141) Gordon, (citat de 109) că la cobai şi om sinteza de AG este mai mare în ficat comparativ cu ţesutul adipos în timp ce la şobolan fenomenul este invers. Shrago şi colab. (139), determinînd activitatea gluco-6-fosfatdehidrogenazei, enzimei malice şi a enzimei de clivaj a citratului, găseşte valori net crescute în ficatul uman faţă de ţesutul gras. Studiile lui Ballard şi Hanson (144, 145) pun în evidenţă, la şobolan, creşterea lipogenezei hepatice în funcţie de vîrsta animalului.

Scanned with OKEN Scanner

TG hepatice pot proveni din :

— sinteza „de novo" din precursori de provenienţă glucidică sau protidică ;

— sinteza „de novo" din glicerol, graţie glicerolchinazei (cale specifică ficatului) ;

— sinteza din AG, care la rîndul lor provin din lipoliza TG adipocitare pe calea circulaţiei sistemice sub forma AGL, TG hepatocitare

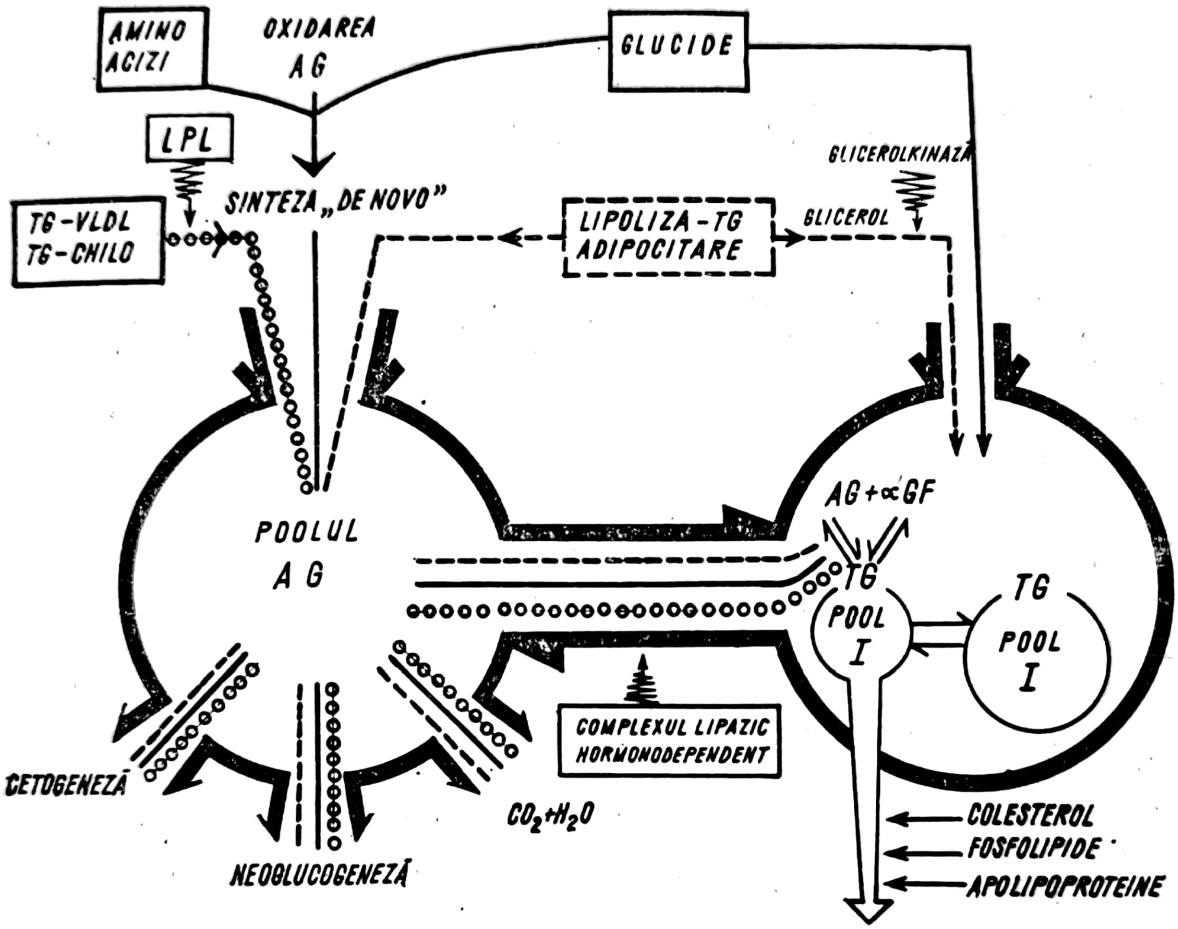


Fig. I.46. — **Compartimentarea intrahepatocitară a acizilor graşi şi trigliceridelor.**

sau din TG ţesutului adipos mezenteric, prin vena portă (146) ;

— sinteza din AG eliberaţi din chilomicroni sau VDL sub influenţa LPL (mecanism contestat de unii autori) (129).

Fiecare din aceste căi participă diferenţiat ca intensitate la formarea TG, în funcţie de aportul alimentar, de starea de nutriţie şi echilibrul neuro-hormonal. În condiţii de echilibru alimentar şi caloric, Zakim (56) calculează sinteza maximă de TG de 1 g/h la un subiect de 70 kg al cărui ficat reprezintă 3% din greutatea corporală ; aceasta în condiţiile în care activitatea acetil-CoA-carboxilazei este de 2,02 μ moli HCO_3 fixaţi/1'/mg proteină. Milson (152) apreciază sinteza de trigliceride într-un ficat uman de 1 500 g ca fiind de aproximativ 9 μ moli/minut.

Indiferent de originea lor, trigliceridele hepatice sînt dispuse în două *pool-uri* (130, 147, 148) : *pool*-ul 1 de volum mare şi mai lent din punct de vedere cinetic, hormono-independent şi *pool*-ul 2, redus în volum, cu turnover mai rapid, hormono-dependent.

METABOLISMUL INTRAHEPATIC AL AG ŞI TG

Alimentaţia, starea de nutriţie şi echilibrul neurohormonal, deci căile metabolice preferenţiale pe care se vor angaja AG şi TG au un rol important în metabolismul intrahepatic. Interconvertirea AG⇄TG a fost deja amintită, dar ea nu reprezintă decît un aspect al problemei. În cazul unor necesităţi energetice mari pot fi „arşi" complet pînă la etapa de CO_2 şi H_2O sau incomplet pînă la corpi cetonici. O altă eventualitate este participarea la neoglucogeneză. TG din *pool*-ul 2 pot fi hidrolizate în AG, angajate în sinteza lipoproteinelor sau depozitate în cadrul *pool*-ului 1 sub formă de VLDL şi apoi secretate în circulaţie. Secreţia TG din ficat, măsurată la om prin metode izotopice (150), este apreciată ca variind între 5 şi 61 μ moli/min /m^2, cu o medie de 19 μ moli/min/m^2.

Hidroliza TG la nivelul ficatului (lipoliza intrahepatică) este un fenomen incomplet lămurit. Se ştie că urmează etapele biochimice descrise în cazul adipocitului. Şi aici, lipoliza poate avea loc diferenţiat histotopografic, în funcţie de originea TG (127, 149) ;

— lipoliza intravasculară sau intercelulară, unde LPL acţionează asupra TG din VLDL şi chilomicroni ;

— lipoliza intracelulară (intrahepatocitară) eventualitate în care „picăturile" de TG sînt hidrolizate de complexul lipazic hormono-sensibil, dar care, spre deosebire de adipocit, nici nu a fost izolat (127). Printr-o metodă originală Boyer şi colab. (127) apreciază capacitatea lipolitică totală a ficatului ca egală sau potenţial superioară celei din ţesutul adipos. Studiile efectuate pe material uman, prelevat postmortem, nu permit extrapolarea lor *in vivo*, deoarece se cunoaşte participarea minoră a ficatului la energogeneză, prin eliberarea AG (127).

INTERRELAŢII LIPIDICE ŞI LIPIDO-GLUCIDO-PROTIDICE LA NIVELUL FICATULUI

Interrelaţiile metabolice de la nivelul ficatului sînt de o mare complexitate. În cele ce urmează vom aborda influenţa AG hepatice asupra metabolismului TG, colesterolului, gluconeogenezei şi glicolizei urmînd ca, la capitolele respective, să se dezbată şi raportul cu fosfolipidele şi lipoproteinele. Riposta lipidică hepatică, consecutivă diferitelor „manevre" dietetice, este cuprinsă în capitolul III unde se va include şi corelaţia reglatoare AG-cetogeneză.

a) *Influenţa AG asupra metabolismului hepatic al TG, colesterolului, FL şi LP*

Majoritatea datelor asupra acestei problematici provin din experienţe efectuate prin metoda ficatului izolat de şobolan şi perfuzat

Scanned with OKEN Scanner

(128—135, 151), sau a ţesutului hepatic uman prelevat chirurgical şi incubat în diferite medii (152—154).

AG influenţează metabolismul hepatic al TG la nivelul celor 3 puncte principale : sinteză, depozitare şi secreţie sub forma LP. Se demonstrează (152) creşterea captării glicerolului-1-3-C^{14} în TG, concomitent cu creşterea concentraţiei AG în mediul de incubaţie. Înlocuirea acidului palmitic cu acid linoleic din mediul de incubaţie nu modifică captarea glicerolului în TG (154). Pe de altă parte, Kohout şi colab. (131) dovedesc o incorporare diferită a AG în TG, în funcţie de structura şi proprietăţile lor fizice şi chimice, conform relaţiei : acid oleic > acid palmitic > acid linoleic. Depozitarea TG în ficat, sub forma cunoscutelor „picături lipidice" este influenţată de lungimea lanţului AG din perfuzie (relaţie direct proporţională) şi numărul dublelor legături din lanţul AG din perfuzie (relaţie invers proporţională) (131), bineînţeles raportat direct la introducerea AG respectiv în turele energogene ale beta-oxidării. Astfel, după perfuzia cu acid caproic (6 : 0), sau acid caprilic (8 : 0), nu se observă acumularea TG în ficat, dar se remarcă creşterea producţiei de CO_2. Fenomenul este invers în cazul perfuziei cu acid stearic, care produce o depozitare mai mare de TG în comparaţie nu numai cu cei doi AG cu lanţ scurt, dar şi raportat la AG cu catenă egală ca număr de atomi de carbon, însă diferită după numărul dublelor legături (acid oleic 18 : 1 şi acid linoleic 18 : 2) (131).

Acumularea TG în ficatul perfuzat este proporţională şi cu concentraţia AGL în mediu (166), fenomen neîntîlnit în cazul colesterolului liber, colesterolului esterificat şi al fosfolipidelor (155).

Secreţia TG sub forma VLDL este, de asemenea, influenţată de către AG (151). Creşterea cantităţii AGL din mediu, cît şi a captării lui de către ficat, induce mărirea secreţiei de TG, fenomen influenţat şi de creşterea ritmului sintezei „de novo" a AG (din precursori glucidici, protidici sau lipidici). S-a observat totuşi hipersecreţia TG hepatice, concomitent cu o lipogeneză „de novo" minimă (diabet, stările de foame). La o perfuzie cu cantităţi echimoleculare de AG, creşterea secreţiei de TG este direct proporţională cu numărul atomilor de carbon şi numărul dublelor legături din lanţul lor. În ficat, AG nesaturaţi sînt oxidaţi preferenţial faţă de AGS omologi ca număr de atomi de carbon, care însă au tendinţa de a fi esterificaţi şi secretaţi ca TG-VLDL (151). S-au remarcat diferenţe importante în ceea ce priveşte secreţia TG din ficatul perfuzat, la şobolanul mascul sau femelă, (secreţia la femelă fiind mai mare decît cea de la mascul) deşi compoziţia lichidului de perfuzie a fost identică calitativ şi echimolecular (151).

Încă din anul 1965, Heimberg şi colab. (156) demonstrează prin aceeaşi metodă, creşterea secreţiei de colesterol sub influenţa creşterii acidului oleic în lichidul perfuzat, fără afectarea concentraţiei intrahepatice a colesterolului. Foarte recent (157), acelaşi autor demonstrează prin aceeaşi metodă că acidul oleic din perfuzie stimulează şi biosinteza hepatică a colesterolului. Faptul are o mare importanţă deoarece prin el se stabileşte relaţia între hipertrigliceridemiile alimentare şi

Scanned with OKEN Scanner

hipercolesterolemie. Într-adevăr, la animalele hrănite cu dietă bogată în grăsimi neutre, activitatea HMG-reductazei hepatice este mărită (158, 159) printr-un mecanism neelucidat deocamdată.

b) *Influența AG asupra gluconeogenezei (GNG) și glicolizei hepatice*

AG hepatici de diferite origini pot stimula GNG prin multiple mecanisme (fig. I.47.) :

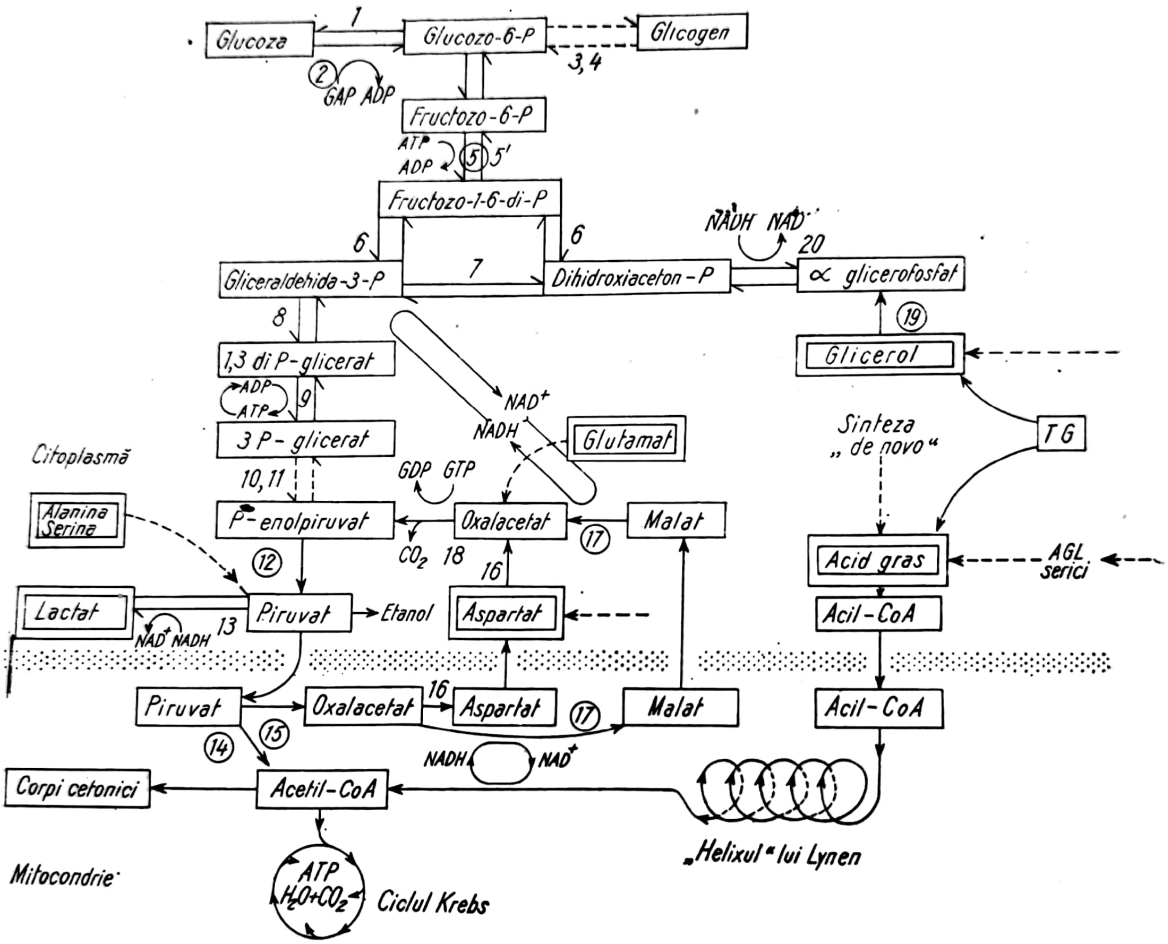


Fig. I.47. — Glicoliza și gluconeogeneza hepatică cu sursele sale (chenar dublu). Simbolurile încercuite reprezintă enzimele influențate de acizii grași.

1. — Glucozo-6-fosfataza ; 2. — Glucokinaza ; 3. — Fosfoglucomutaza ; 4. — Laxakinaza ; 5. — Fosfofructokinaza ; 6. — Aldolaza ; 7. — Triozofosfatizomeraza ; 8. — Gliceraldehilfosfat dehidrogenaza ; 9. — Fosfogliceratkinaza ; 10. — Fosfogliceromutaza ; 11. — Enolaza ; 12. — Piruvatkinaza ; 13. — Lacticodehidrogenaza ; 14. — Piruvatdehidrogenaza ; 15. — Piruvatcarboxilaza ; 16. — Transaminaza glutamooxalacetică ; 17. — Malatdehidrogenaza ; 18. — Fosfoenolpiruvatcarboxikinaza ; 19. — Glicerolkinaza ; 20. — Glicerolfosfatdehidrogenaza.

1. Glicerolul, ca produs al hidrolizei TG intrahepatocitare sau adipocitare, se transformă în alfa-glicerofosfat (prin cataliza exercitată de glicerokinaza specifică ficatului), de unde prin intermediul glicerolfosfatdehidrogenazei devine dihidroxiacetonfosfat (simbolurile 19 și 20) ;

2. Un alt grup de mecanisme complexe (42, 95, 129, 160—165) presupune oxidarea intramitocondrială a AG cu eliberarea de acetil CoA și $NADH^+$. Acești metaboliți au următoarele efecte vizînd GNG :

Scanned with OKEN Scanner

a) inhibarea piruvatdehidrogenazei (simbol 14), fenomen produs de creşterea intramitocondrială a acil CoA, acetil CoA şi $NADH^+$;

b) stimularea piruvatcarboxilazei (secvenţa 15), produsă de acetil CoA, care s-a dovedit a fi un activator alosteric al enzimei (161, 162). În felul acesta creşterea concentraţiei AG sau a betaoxidării lor inhibă oxidarea piruvatului orientîndu-l spre GNG ;

c) stimularea formării intramitocondriale a malatului (simbol 16), sub influenţa malatdehidrogenazei care traversează membrana mitocondrială şi este apoi reconvertit în oxalacetat. Prima reacţie este $NADH^+$ dependentă, a doua este cuplată cu reconvertirea 1-3-digliceratului în gliceraldehidă-3P, care necesită $NADH^+$. Se observă deci că malatul transportă în citoplasmă atît H^+, cît şi carbonul necesar GNG.

În concluzie, stimularea GNG de către AG este corelată cu betaoxidarea lor ; aceasta modifică potenţialul redox al sistemului NAD/NADH, creşte concentraţia acetil CoA intramitocondriale, care reprezintă de fapt factorii de reglare propriu-zişi ai GNG de către AG.

Referitor la simultaneitatea biosintezei AG şi GNG hepatice se afirmă că este posibilă în condiţii de echilibru metabolic. Uneori între cele două procese poate interveni o competiţie pentru echivalenţi reductori, ATP şi piruvat (42).

Deşi unii autori afirmă că (166), AG stimulează GNG avînd punct de plecare atît aminoacizii, cît şi lactatul, Moyes (129) infirmă acest lucru. Prin metoda ficatului izolat de şobolan perfuzat, nu se demonstrează stimularea GNG din lactat de către AG crescuţi fiziologic, ci numai din aminoacizi. Faptul este important deoarece explică parţial adaptarea energogenă a organismului în foamea normală, fiziologică (unde GNG din lactat stimulată de AG nu există) şi în diabetul zaharat sau cetoza din foamea prelungită (circumstanţe în care acest efect este posibil) (129).

AGL inhibă glicoliza hepatică (95) prin inactivarea glucokinazei (simbol 2 în fig. I.47.), fosfofructokinazei (simbol 5) şi piruvatkinazei (simbol 12) (167). Se pare că efectul este nespecific, neavînd un rol reglator cert şi este cauzat de acţiunea de detergenţi nespecifici a AGL asupra enzimelor în general (168). Glicoliza este depresionată şi de către produşii betaoxidării AG : acetil CoA şi $NADPH^+$, care inhibă glucokinaza şi piruvatkinaza (169). Aceste fapte reprezintă concluziile unor experimente pe animale, rezultatele lor nefiind extrapolabile la om. Pînă în prezent nu s-au comunicat date referitoare la influenţa AG asupra GNG la om (170). Totuşi, prin similitudinea tabloului enzimatic caracteristic GNG în ficatul de om şi porc, rezultatele obţinute la acest animal pot fi extrapolate la om.

B. METABOLISMUL AG ŞI TG ÎN ŢESUTUL ADIPOS

Multă vreme, ţesutul adipos a fost considerat inert din punct de vedere metabolic. Este vorba de o perioadă destul de lungă care a durat pînă la sfîrşitul deceniului V al secolului nostru. Ea este perfect caracterizată de titlul lucrării lui Wells din 1940 : „Ţesutul adipos

Scanned with OKEN Scanner

un subiect neglijat" (citat de 172). Prin lucrările lui Wertheimer, Shapiro, Hausberger, Feller, Clement, Favarger (citaţi de 173) şi mai ales în urma izolării AGL (4—6), se deschide o etapă nouă în care ţesutului adipos îi revine rolul major în metabolismul lipidic. Apar monografii de amploare avînd ca temă ţesutul adipos, iar Congrese Internaţionale îi dedică tematici. Începînd cu anul 1965, după introducerea noului concept asupra transportului lipidelor sub forma LP şi a rolului lor în hiperlipoproteinemii şi ateroscleroză (174), rolul ficatului în sinteza LP este reconsiderat, astfel încît astăzi cele două organe sînt privite ca regiuni topografice de importanţă majoră în metabolismul lipidic şi lipoproteinic.

STRUCTURA ŢESUTULUI ADIPOS

La om, din cele două forme de ţesut adipos, tipul „alb" este covîrşitor, în timp ce tipul „brun" este prezent în mod excepţional (175).

Ţesutul adipos „alb" este format din adipocite, mastocite, fibre reticulare de susţinere, vase şi nervi (175—177).

Elementul histologic definitoriu este fără îndoială adipocitul, care, în stadiul de maturaţie, apare ca o celulă mare, rotundă cu diametrul de aproximativ 120 microni (176), sau 50—100 microni după alţi autori (194). Datorită grăsimilor neutre care ocupă o mare parte din citoplasmă, aceasta este împinsă la periferie împreună cu nucleul, realizînd aspectul de „inel cu pecete" (175). Grăsimea citoplasmei se apreciază la 0,5—1,5 microni cu un volum de 3850 microni^3, corespunzînd unui adipocit cu diametrul de 50 microni, din care 49 microni sînt datoraţi depozitului gliceridic (194). La microscopul electronic s-au evidenţiat următoarele organite : nucleu, mitocondrii, liposomi, microsomi şi membrana adipocitului (194).

Adipocitele provin atît din fibrocite, cît şi din histocite, încă din primele săptămîni ale vieţii intrauterine (178).

Numeroşi factori endo- şi exogeni pre- şi postnatali influenţează volumul şi numărul lor (sexul, vîrsta, alimentaţia, starea de nutriţie, masa totală a ţesutului adipos, activitatea fizică, regiunea topografică, precum şi alţi factori insuficient precizaţi însă dintre care cel genetic se pare că are un rol important) (175—185).

Modificările celulelor adipoase, corelate cu vîrsta, au loc la început prin hiperplazie, apoi prin hipertrofie (180), astfel încît în jurul vîrstei de 23 de ani se fixează numărul total al adipocitelor (179). În tabelul I.16. sînt redaţi cei trei parametri principali care definesc ţesutul adipos uman la bărbaţi şi femeie. Remarcăm influenţa vîrstei asupra creşterii statistic semnificative atît la bărbat, cît şi la femeie, a masei totale a ţesutului adipos şi a dimensiunii adipocitelor din regiunea abdominală, fesieră şi a coapselor. O creştere semnificativă statistic a numărului adipocitelor la femei, comparativ cu bărbaţii, este prezentă în regiunea abdominală şi fesieră, pe cînd modificarea asemănătoare a volumului adipocitar este depistată numai în regiunea coapselor (tabelul I.17). Variaţia acestor parametrii este foarte importantă deoarece este legată de intensitatea unor procese metabolice intraadipocitare (180).

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul I.16

Variaţia masei totale a ţesutului adipos, a numărului şi dimensiunii adipocitelor la femei şi bărbaţi în funcţie de vîrstă (23 şi 50 de ani); asteriscul marchează existenţa unei diferenţe statistic semnificative

(După Björntorp — 178—181 şi Sjöström — 185)

Parametrii	Femei		Bărbaţi	
	23 ani	50 ani	23 ani	50 ani
1. Masa totală a ţesutului adipos (kg)	11*	19	6*	16
2. Numărul adipocitelor ($\times 10^{10}$)	4,2	3,6	2,5	2,8
3. Dimensiunea adipocitelor (μm)				
— abdomen	79*	102	73*	102
— fese	87*	109	84	—
— coapse	90	—	76*	110

Tabelul I.17

Variaţia numărului şi diametrului adipocitar la femei şi bărbaţi în diferite regiuni topografice. Asteriscul marchează existenţa unei diferenţe semnificativ statistice (după datele lui Björntorp — 179)

Parametrii	Regiunea topografică	Femei	Bărbaţi
Numărul celulelor adipoase ($\times 10^8$)	Abdomen	30*	20
	Coapse	34	33
	Fese	26*	14
Dimensiunile celulelor adipoase (μm)	Abdomen	79	73
	Coapse	90*	76
	Fese	87	84

Dintre celelalte celule prezente în ţesutul adipos se detaşează, ca importanţă, mastocitele care, prin distribuţia lor în jurul terminaţiilor nervoase şi a vaselor, cît şi prin activitatea enzimatică bogată ce o posedă, se dovedesc elemente funcţionale remarcabile ale acestui ţesut (178).

Inervaţia funcţională este asigurată atît de fibre colinergice, cît şi adrenergice (178, 186—190), fapt cu semnificaţie funcţională deosebită.

Un element histo-funcţional important este reţeaua capilară foarte dezvoltată, dotată la rîndul ei cu dublă inervaţie funcţională adrenergică (178). S-a evidenţiat existenţa autoreglării circulaţiei sanguine în ţesutul adipos (246).

BREVIAR ASUPRA METODELOR DE INVESTIGARE A ŢESUTULUI ADIPOS

Înmulţirea impresionantă a cunoştinţelor noastre asupra ţesutului adipos reprezintă consecinţa directă a îmbunătăţirii mijloacelor de investigare a acestuia, pe care le putem schematiza astfel :

Scanned with OKEN Scanner

a) *Explorarea in vitro a țesutului adipos*

Explorarea *in vitro* a țesutului adipos necesită în prealabil prelevarea sa din organismul uman sau animal, care se poate face prin : puncție, puncție biopsie (191, 192) sau pe cale chirurgicală (179—183, 193). La om pot fi abordate regiunile topografice deja amintite. Materialul obținut se poate prelucra pe diferite căi :

— colorarea cu Sudan III, Sudan negru, Scherlack sau acid osmic, pentru evidențierea grăsimilor neutre acumulate în citoplasmă (175). Examinarea se poate face fie la microscopul optic, fie la cel electronic, eventualitatea în care sînt necesare metode de colorare și fixare specială. De mare interes sînt studiile lui Angel și Farkas (194) vizînd aspectele de electromicroscopie și compoziție chimică a membranei adipocitare ;

— fixarea și colorarea în vederea determinării numărului și volumului adipocitar prin metoda Hirsch (195), modificată de Sjöström și colab. (196) ;

— determinarea conținutului în lipide, protide, glucide și enzime, cît și activităților metabolice principale : lipoliza, lipogeneza, glicoliza, incorporarea acizilor grași și a glucozei în adipocit (197). Prin incubarea țesutului adipos în diferite compoziții, se pot investiga unele condiții de reglare metabolică (191, 198) ;

— izolarea adipocitului prin tratarea țesutului cu colagenază („ghosts"). Tehnica a fost preconizată de Rodbell în anul 1964 (199), după care același autor a demonstrat că preparatul obținut pe această cale „ghosts-ul" este un excelent model pentru studii metabolico-reglatoare (199—205). În următorii ani, „ghosts-ul" a constituit metoda de elecție și pentru studiul pinocitozei (213), sau al membranei adipocitare (194) ;

— cultura de țesut adipos.

b) *Explorarea in vivo a țesutului adipos*

Explorarea *in vivo* se poate efectua atît la om, cît și la animale prin următoarele metode :

— țesut adipos pe șobolan perfuzat (206). Se obțin date asupra căilor metabolice și circulației țesutului adipos ;

— marcarea țesutului adipos (207) prin administrarea la animale a AGL marcați, metodă care permite aprecieri asupra unor căi metabolice din acest țesut (captarea AGL, lipogeneză, lipoliză) ;

— determinarea fluxului sanguin în țesut adipos la iepure (208) sau la om (209), prin utilizarea xenonului[133] ;

— diluția izotopică prin care se determină masa totală a țesutului adipos (210).

Metodele de investigare a țesutului adipos furnizează rezultate destul de dispersate la animale și la om (198). Încă nu s-a descoperit un animal al cărui țesut adipos să se asemene din punct de vedere metabolic cu cel uman (198). Din acest motiv, extrapolarea rezultatelor acestor experimente la om trebuie făcută cu multă prudență.

Scanned with OKEN Scanner

COMPOZIŢIA ÎN TRIGLICERIDE ŞI ACIZI GRAŞI A ŢESUTULUI ADIPOS

Ţesutul adipos uman conţine 90 mg lipide totale/100 mg ţesut proaspăt, din care 86 mg trigliceride, 0,16 mg colesterol şi 0,15 mg fosfolipide (191).

AG din compoziţia TG adipocitare au distribuţia redată în tabelul I.18. Se remarcă creşterea frecvenţei acizilor palmitic şi oleic (212).

Tabelul I.18

Compoziţia în acizi graşi a ţesutului adipos uman. Determinările s-au efectuat prin cromatografie în gaz-lichid pe ţesut recoltat postmortem sau prin puncţie-biopsie ; exprimarea se face în procente din totalul acizilor graşi (tabel simplificat după Hirsch — 212)

Acizi graşi	Hirsch şi colab. 1960	Gellhorn & Marks 1961	Scott şi colab. 1962	Hegsted şi colab. 1962	Dayton şi colab. 1962	Heffernan 1963
Lauric	0,7	0,4	0,6	0,5	1	1,1
Miristic	3,3	2,4	4,1	3,6	2	4,7
Palmitic	19,5	24,6	25,0	24,6	21,0	23,8
Palmitoleic	6,9	5,6	6,3	6,1	7	5,7
Stearic	4,2	6,0	4,3	6,7	6	5,6
Oleic	46,7	49,9	50,2	50,3	52	52,4
Linoleic	11,4	9,5	9,5	7,9	8	6,7

SURSE DE AG ŞI TG ÎN ŢESUTUL ADIPOS

Literatura privind sursele AG şi TG în ţesutul adipos animal (şobolan în special) este extrem de bogată (112, 137—139, 142, 172, 214—220, 222—224), dar datele vizînd ţesutul adipos uman sînt relativ reduse (139, 221, 225). Or, se cunoaşte faptul că în acest sector metabolico-topografic, extrapolarea la om a concluziilor rezultate din experimente pe animale nu poate fi făcută, deoarece diferenţele sînt esenţiale (139).

Sursele de AG în ţesutul adipos uman sînt reprezentate de (139, 221, 225) : AGL circulanţi care pătrund în adipocit, AGL proveniţi din hidroliza TG-VLDL sau TG-chilomicroni sub influenţa LPL sau AGL proveniţi din hidroliza TG intraadipocitară prin acţiunea sistemului lipazic.

Trigliceridele provin fie din VLDL sau chilomicroni (225), fie din sinteza lor intraadipocitară (139, 225).

Captarea AGL sau TG de către ţesutul adipos solicită un sumar comentariu asupra trecerii acestor substanţe din plasmă în celule. În figura I.48. sînt redate „obstacolele structurale" în timpul acestui transport : membrana endotelială, citoplasma endotelială, membrana bazală perivasculară, spaţiul perivascular, membrana bazală adipocitară, membrana adipocitară, citoplasma adipocitară (227). Pătrunderea AG sau TG se face prin formarea de microvezicule succesive împreună cu membranele respective (fig. I.49.). În cazul AGL, conform concepţiei lui

Scanned with OKEN Scanner

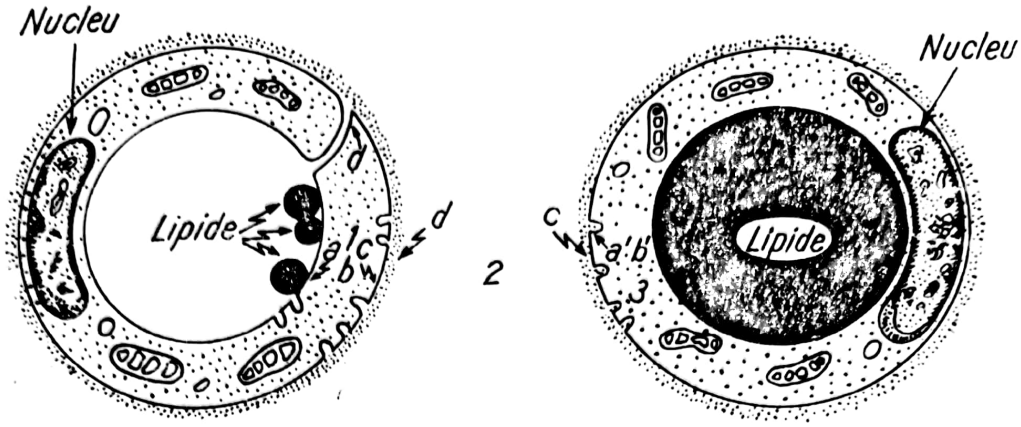


Fig. I.48. — Obstacolele „structurale" ale transportului lipidic din lumenul vascular în adipocit :
1 a și 1 c = membrană plasmatică endotelială ; 1 b = citoplasma endotelială ; 1 d = joncțiunea intercelulară endotelială ; 2 a = membrana bazală perivasculară ; 2 b = spațiul perivascular ; 3 c = membrana bazală adipocitară, 3 a = membrana plasmatică adipocitară ; 3 b = citoplasma adipocitară — după Williamson și Lacy, 227.

Williamson (226), fenomenele se desfășoară în următoarele secvențe (fig. I.50).

— AGL eliberați din VLDL sau chilomicroni la nivelul endoteliului, prin activarea LPL, traversează, sub forma veziculelor, membrana endotelială și pe cea bazală (secvența 1—4), după care se „sparg", iar

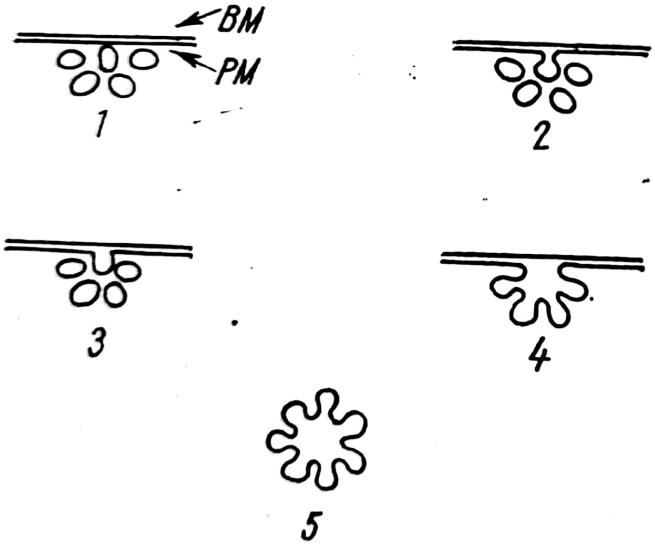


Fig. I.49. — Formarea rozetelor microvilozitare în cazul transportului lipidic „în" și „din" celulă ; BM = membrana bazală, BM = membrana plasmatică — după Williamson și Lacy, 227.

AGL sînt transportați în continuare prin spațiul perivascular spre membrana bazală adipocitară și membrana adipocitară, care sînt depășite tot prin formarea de vezicule (secvențele 5—9). Se pare că acest transport al AGL și probabil al TG, prin sistemul membranar și spațiul perivascular, joacă un rol important în unele forme de hipertrigliceridemii umane (197).

Prin metoda țesutului adipos perfuzat la șobolan (229), s-a demonstrat captarea trigliceridelor intacte, nehidrolizate de către acest țesut. Ulterior, fenomenul a fost confirmat și la om (226). Se pare că TG sînt

sechestrate în spaţiul perivascular de unde prin activitatea LPL se eliberează AGL. Aceştia vor pătrunde ulterior în adipocit. Experienţele lui Williamson şi colab. (226) demonstrează că TG exogene sînt o sursă importantă a acizilor graşi din gliceridele adipocitare.

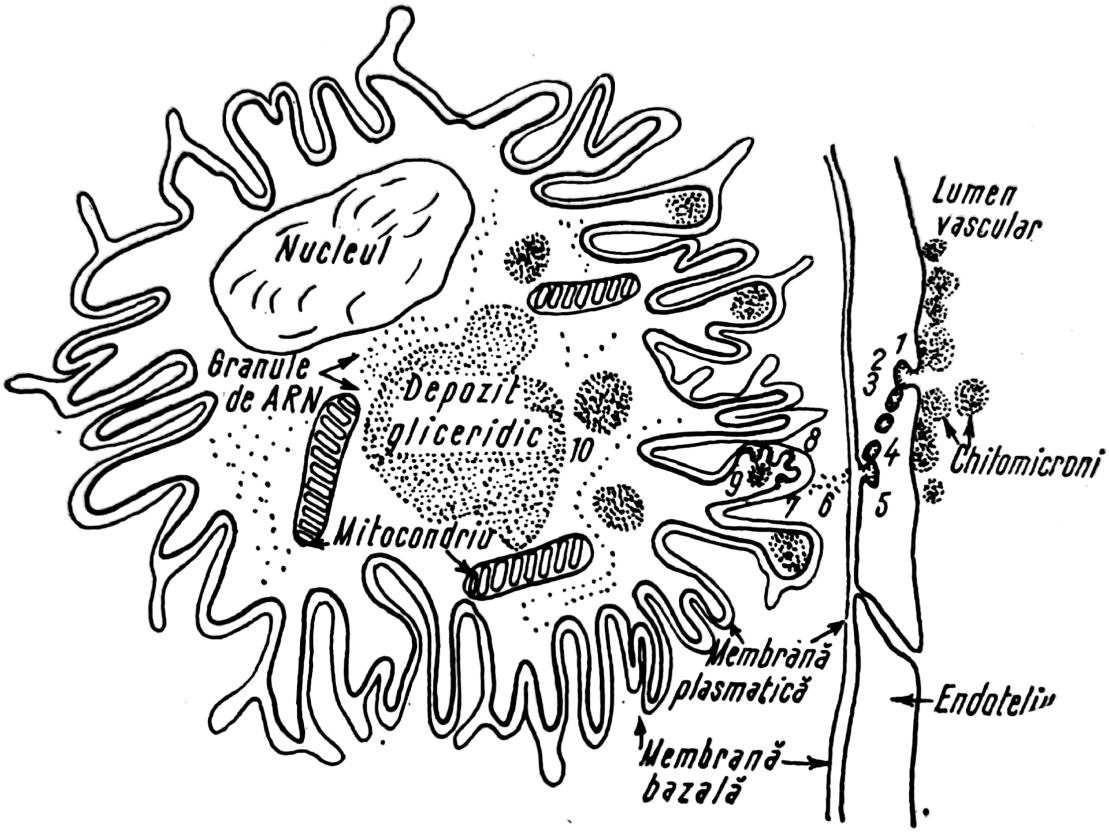


Fig. 150. — Pătrunderea AGL rezultaţi din hidroliza trigliceridelor chilomicronice sau a VLDL în adipocit — după Williamson şi Lacy, 227.

CĂILE METABOLICE ALE AG ŞI TG ÎN ADIPOCIT (COMPARTIMENTARE STRUCTURALĂ ŞI BIOCHIMICĂ)

Căile metabolice preferenţiale ale AG şi TG în adipocit sînt lipogeneza şi lipoliza. Ele variază calitativ şi cantitativ în funcţie de necesităţile energetice, starea de nutriţie şi aportul alimentar.

a) *Lipogeneza*

„Biosinteza *de novo*" a AG în adipocit este practic fără importanţă datorită activităţii foarte reduse a sistemului enzimatic (139, 221, 225). Astfel, Shrago (139, 221), demonstrează că incorporarea radioprecursorilor (glucoză-U-C^{14} ; glicerol-U-C^{14} ; piruvat-3-C^{14} ; citrat-U-5-C^{14} ; acetil CoA-1-C^{14}) în AG adipocitar, lipseşte sau este foarte redusă. Totuşi, aceşti precursori apar în gliceridele adipocitare ceea ce dovedeşte că glicerogeneza este prezentă. AG a căror sursă intra- sau extraadipocitară am descris-o se esterifică rapid prin unirea cu alfa-glicerofosfatul formînd gliceridele, conform secvenţelor arătate la capitolul I.3.5. Esen-

țialul în această cale metabolică este alfa-glicerofosfatul la care se ajunge în principal prin glicoliză. Secvențele din hepatocit (vezi fig. I.47.) sînt valabile și în cazul țesutului adipos :

— convertirea piruvatului în alfa-glicerofosfat se face grație celor două enzime piruvat-carboxilazei (care transformă piruvatul în oxalat) și fosfoenolpiruvat-carboxikinazei (care generează fosfoenolpiruvat din oxalacetat). Ele au fost izolate în țesutul adipos uman (221). Fosfoenolpiruvatul se va angaja apoi pe căile inverse ale glicolizei, dar nu pînă la etapa de glucoză deoarece din țesutul adipos uman lipsește fructozo-1-6-difosfataza și glucozo-6-fosfataza (motiv pentru care GNG nu este prezentă în acest țesut) și pînă la alfa-glicerofosfat, necesar regenerării acidului piruvic citoplasmatic. Reacțiile pînă la etapa de alfa-glicerofosfat au loc în citoplasmă (formarea gliceridelor se produce în mitocondrii și reticulul endoplasmatic). Generarea oxalacetatului se face prin calea malatului a cărui enzimă, malatdehidrogenaza, a fost evidențiată în țesutul adipos uman (139, 221). Totuși, datorită faptului că activitatea malatdehidrogenazei este foarte redusă la acest nivel, iar după unii autori chiar lipsește (230), generarea alfa-glicerofosfatului pe această cale este neînsemnată la om.

O problemă controversată este aceea a glicerolului ca precursor al alfa-glicerofosfatului în adipocit, prin activitatea glicerokinazei. Experiențele lui Shrago dovedesc însă incorporarea glicerolului-U-C^{14} în gliceride dovedindu-se prin aceasta existența glicerokinazei și în țesutul adipos. Faptele trebuie însă confirmate. Totuși, în stare de echilibru alimentar și nutritiv, acidul piruvic, acidul lactic și glicerolul sînt precursori nesemnificativi ai glicerogenezei, circumstanță în care glucoza este donatorul preferențial de alfa-glicerofosfat. În perioadele de foame crește și importanța celorlalți precursori.

S-a semnalat că, volumul adipocitar influențează sinteza TG (234). Fenomenul este deosebit de important în special în stările legate de hipertrofia celulelor adipoase (obezitate hipertrofică) corelat cu hipertrigliceridemia și insulinemia.

Variația cantitativă a lipogenezei adipocitare în diferite circumstanțe reglatoare va fi expusă în capitolul III.

b) *Compartimentarea structurală și biochimică a AG și TG în adipocit*

Abordarea problematicii lipolizei în țesutul adipos trebuie să fie precedată de un breviar asupra compartimentării structurale și biochimice a AG și TG în adipocit deoarece, în felul acesta ciclul celor două substanțe este înțeles în intimitatea lui.

TG sînt dispuse în adipocit în două *pool*-uri distincte (fig. I.51.) :

— „*pool*-ul gliceridic de depozit", cvasi inactiv, cvasi inert care conține TG ce sînt stocate. Din punct de vedere structural este marcat de „picăturile gliceridice" citoplasmatice ;

— „*pool*-ul gliceridic activ", care nu are o corespondență structurală certă, fiind alcătuit din digliceride (predominant) și trigliceride

ce urmează a fi hidrolizate sub acţiunea sistemului lipazic. Gliceridele din acest *pool* sînt provenite fie din „*pool*-ul de depozit", fie din biosinteza lor adipocitară. „Microtransportul" trigliceridelor nou formate în reticulul endoplasmatic şi mitocondrii se poate face simplu, sub forma liposomilor, particule intracitoplasmatice formate din unirea mai multor

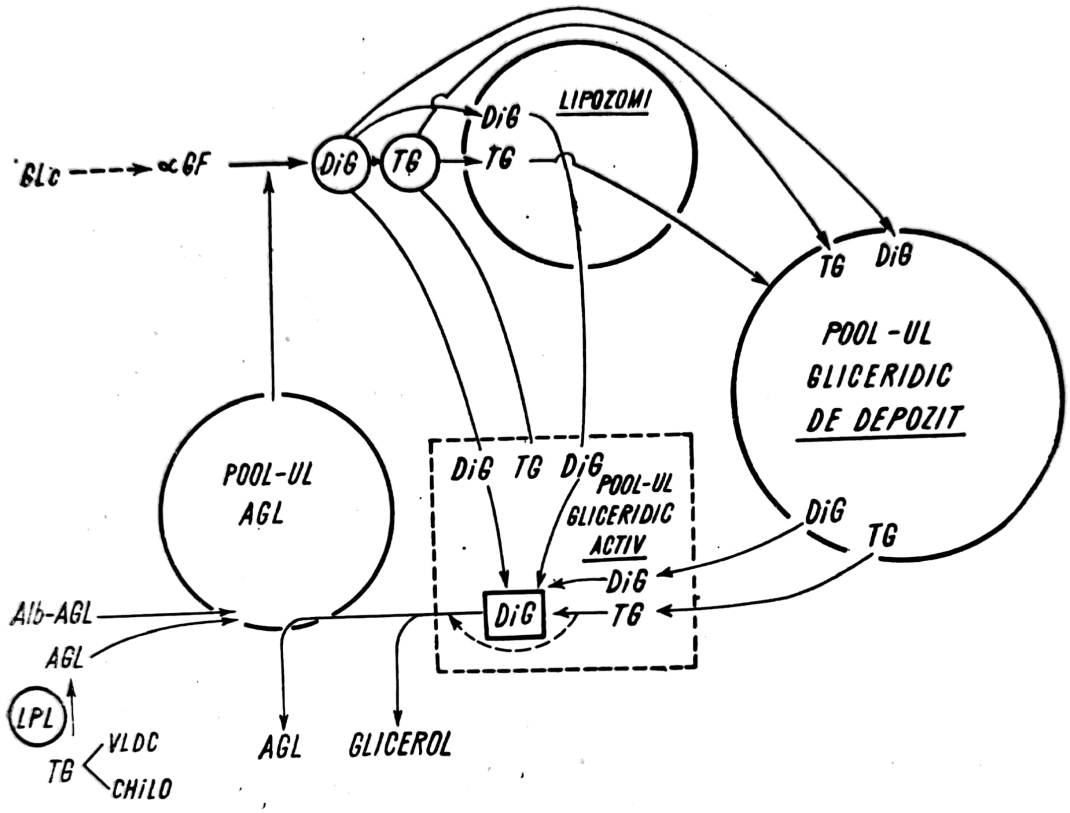


Fig. I.51. — Compartimentarea metabolică a trigliceridelor şi acizilor graşi în adipocit ;
GLc = glucoză ; DiG = digliceride ; Alb = albumină.

di- şi trigliceride de diferite origini şi care toate, sînt transportate spre *pool*-ul de depozit. Liposomii au dimensiunea de 0,5—2,5 microni^3 şi conţin mai puţin de 0,5% din lipidele celulare. Analiza chimică evidenţiază o compoziţie de 94% TG, 5,5% fosfolipide, digliceride, AGL, motiv pentru care la microscopul electronic se aseamănă cu chilomicronii (194).

Acizii graşi sînt dispuşi, se pare, într-un singur *pool* format din AGL pătrunşi din plasmă sau rezultaţi din hidroliza TG, înainte de a fi esterificaţi sau eliminaţi în circulaţie (fig. I.51.).

c) *Lipoliza*

Secvenţele hidrolizei trigliceridelor intraadipocitare au fost expuse. Studii mai vechi de topochimie (Diculescu în 1959—1960, citat de 178), localizează sistemul lipolitic hormonodependent în profunzimea adipocitului spre deosebire de lipoproteinlipaza localizată la suprafaţa sa.

Recent, se confirmă acest lucru precizîndu-se poziţia citoplasmatică a acestui sistem enzimatic (237). Aceasta corespunde cu hidroliza preferenţială a digliceridelor din *pool*-ul gliceridic activ (139, 231—233). Între factorii intraadipocitari reglatori ai lipolizei cercetările lui Ostman (234) evidenţiază creşterea eliberării de glicerol de la aproximativ 8 μ moli/10^7/2 h, corespunzător unui volum adipocitar de 500 $mm^3 \times 10^{-6}$, la 32 μ moli/10^7/2 h, în cazul volumului adipocitar de 1 500 $mm^3 \times 10^{-6}$. Oricum, acest proces trebuie corelat cu fenomenul asemănător descris în cazul sintezei trigliceridelor, ambele corelate cu hipertrigliceridemia şi variaţia insulinemiei.

Un alt factor intraadipocitar reglator al hidrolizei gliceridelor este acumularea intracelulară a AGL şi formarea unui gradient de concentraţie faţă de spaţiul extracelular (232). De fapt, autolimitarea lipolizei prin mecanism *feed-back* negativ (autoreglaj recurent — 235) declanşat de creşterea AGL intraadipocitari a fost intuită şi de alţi autori (235) fiind demonstrată la om *in vivo* (236). Conform acestui concept, acumularea intraadipocitară a AGL produce creşterea gradientului de concentraţie faţă de spaţiul extracelular concomitent cu inhibarea sistemului lipazic citoplasmatic şi oprirea hidrolizei gliceridelor. Este valabil şi fenomenul invers, activarea lipolizei consecutivă scăderii intraadipocitare a concentraţiei AGL.

Aspectele structurale legate de pătrunderea în plasmă a AGL sînt redate în figura I.52, conform concepţiei lui Williamson (226, 227).

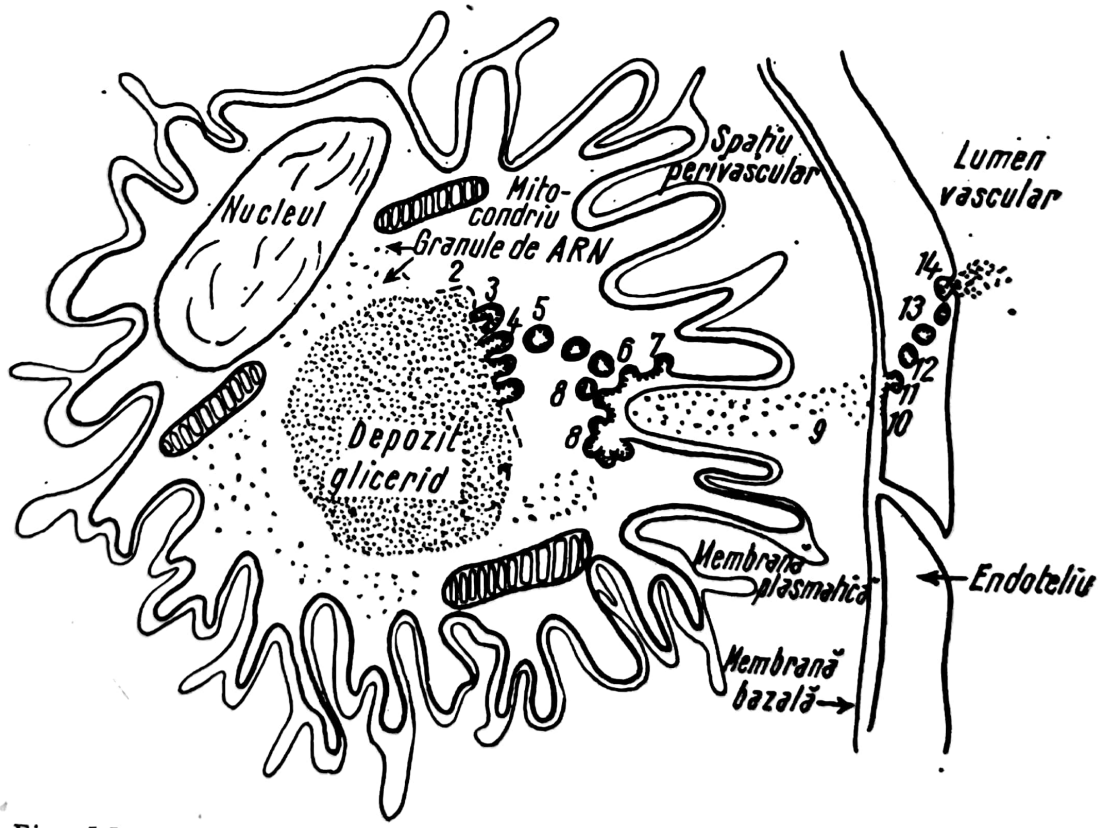


Fig. I.52. — Secvenţele structurale ale penetrării AGL din adipocit în circulaţie — după Williamson şi Lacy, 227.

Astăzi se consideră valabile numai fenomenele legate de pasajul transmembranar al AGL eliberaţi din TG care se face tot prin veziculare. Topochimia hidrolizei trigliceridelor nu mai este acceptată în maniera prezentată în partea centrală a figurii, deoarece aşa cum am arătat, aceasta are loc preferenţial în digliceridele din *pool*-ul activ şi nu în *pool*-ul gliceridic de depozit.

Factori reglatori ai pasajului transmembranar ai AGL sînt vasomotricitatea locală şi strîns legat de aceasta disponibilitatea de albumină ca acceptor al AGL.

În concluzie, căile metabolice ale AG şi TG se desfăşoară corelativ cu alte linii metabolice deosebit de importante : pătrunderea glucozei în adipocit, glicoliza, calea pentozelor, glicogeneza, glicogenoliza, proteosinteza, proteoliza. Acestea sînt reglate complex în funcţie de starea de nutriţie şi aportul alimentar. În ultimă instanţă, ele sînt decise de necesităţile energetice ale organismului şi integrarea ţesutului adipos în circuitele de reglare şi menţinere a homeostaziei energetice.

C. METABOLISMUL AG ŞI TG ÎN MUŞCHI

Ţesutul muscular striat sau neted reprezintă principalul consumator de energie în corpul omului. Surprinzător însă, biochimia lipidelor la acest nivel a fost oarecum neglijată comparativ cu celelalte sectoare tisularo-biochimice (ficat, ţesut adipos). Prin lansarea de către Randle (238, 239, 242), a conceptului corelaţiei antagonice între AGL şi glucoză în cadrul „ciclului AGL-glucoză" cu referire la muşchi şi ţesut adipos, importanţa ţesutului muscular a fost reconsiderată (230, 240—244). Compoziţia în AG şi TG a ţesutului muscular este redată în tabelul I.19.

Tabelul I.19

Compoziţia ţesutului muscular striat în trigliceride şi colesterol (după Carlson — 240)

Colesterol mg/g	Fosfolipide mg/g	Trigliceride moli/g
1,37±0,02	14,4±0,3	1,47±0,12

SURSELE ŞI CĂILE METABOLICE ALE AG ŞI TG ÎN MUŞCHI

În figura I.53 sînt redate sursele AG şi TG în muşchi, precum şi căile lor metabolice, în corelaţie cu metabolismul glucidic şi protidic. Menţionăm că acestea variază mult în funcţie de echilibrul neuro-endocrino-metabolic, de starea de nutriţie şi alimentaţia organismului (130, 241, 242, 244).

Sursele extracelulare de AG în ţesutul muscular sînt reprezentate de AGL circulanţi (AGL-albumină, AGL-TG-lipoproteine). Ei sînt eliberaţi din molecula lipoproteinelor prin acţiunea LPL a cărei activitate a fost evidenţiată nu numai în ţesutul muscular striat, dar chiar

şi în miocardul uman (245). Ca sursă intracelulară de AGL este notată posibilitatea hidrolizei TG. Acestea se formează prin esterificarea AGL cu alfaglicerofosfatul de unde rezultă că disponibilitatea acestui ultim metabolit, la fel ca în cazul ţesutului adipos, este un element reglator important al metabolismului AGL sau TG şi la nivelul muşchiului. Alfa-glicerofosfatul provine din degradarea glucozei pe calea glicolizei.

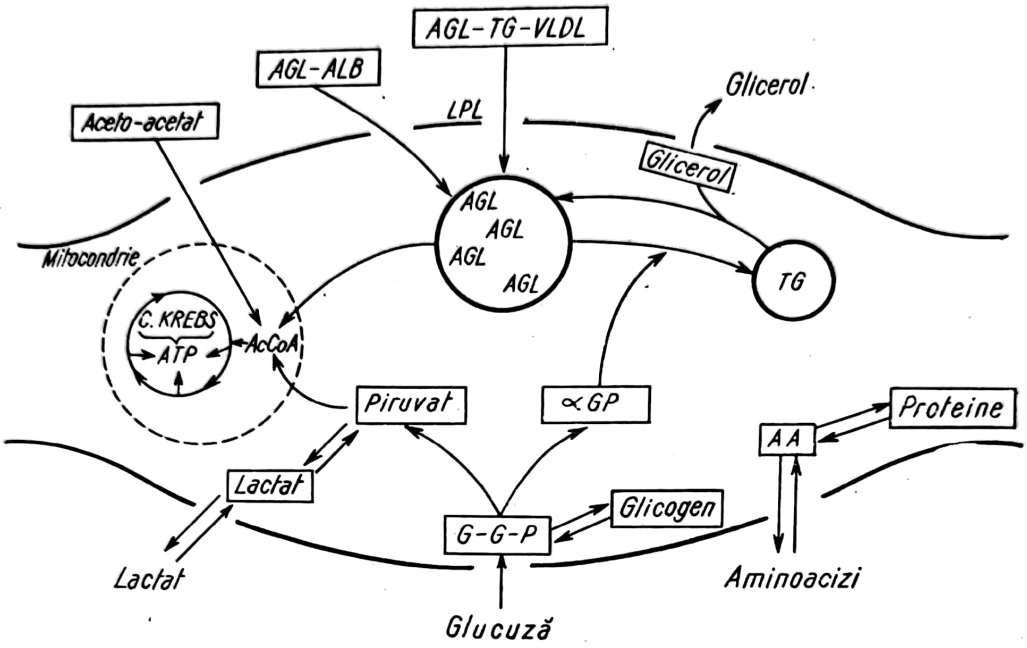


Fig. I.53. — **Metabolismul acizilor graşi liberi şi trigliceridelor la nivelul ţesutului muscular în corelaţie cu metabolismul glicidic şi protidic.**

O altă posibilitate de evoluţie a glucozei este degradarea completă pînă la piruvat şi lactat sau transformarea în glicogen, care se depozitează la fel ca şi TG (este cunoscut faptul că musculatura reprezintă depozitul principal de glicogen al organismului). Lactatul părăseşte celula musculară, deoarece nu mai poate fi reconvertit spre GNG, întrucît aparatul enzimatic necesar acestei căi lipseşte. O cale metabolică importantă care nu a fost evidenţiată la nivelul celulei musculare este calea pentozelor. În felul acesta o remarcabilă sursă de donatori de H^+ ($NADPH^+$) este suprimată, biosinteza AG nefiind posibilă deci la acest nivel. Piruvatul pătrunde în mitocondrii, împreună cu AGL activaţi, unde sînt angrenaţi pe calea degradării oxidative energogene din ciclul Krebs.

Stările care impun un consum energetic induc pe cale neurohormonală hidroliza TG, glicogenoliza şi proteoliza cu eliberarea aminoacizilor care părăsesc celula cu destinaţia ficat, în scop glucoformator. În acelaşi scop, este orientat spre ficat glicerolul şi lactatul, acest ultim metabolit participînd la GNG în cadrul „ciclului CORI".

Muşchiul este energo-consumator avînd ca substrat AGL şi glucoza, iar în condiţiile speciale lactatul sau acetoacetatul. Aceşti ultimi doi metaboliţi pot fi utilizaţi în special de către miocard şi diafragm.

Scanned with OKEN Scanner

Din această sumară prezentare rezultă interrelația glucido-lipido-protidică și, mai ales, glucido-lipidică, la nivelul celulei musculare în cadrul homeostaziei energetice. Deși rolul musculaturii în afectarea lipidelor serice nu este frecvent incriminat, se cunosc stări hiperlipoproteinemiante în cazul tulburării metabolismului țesutului muscular.

REZUMAT

Acizii grași și, în special AGL, îndeplinesc în organism funcțiuni importante atît energetice, cît și plastice. Compartimentarea și cinetica lor în organism sînt extrem de complexe.

În metabolismul AG deosebim o secvență „input" care se referă la aportul alimentar de AG și în special la sinteza acestora, proces complex cu un aparat reglator deosebit de important. Secvența „output" a metabolismului AG cuprinde degradarea lor oxidativă în scop energogen, sau participarea la cetogeneză.

Trigliceridele sînt esterii glicerolului cu diferiți acizi grași. Ele reprezintă prototipul lipidelor neutre avînd în metabolismul lor o secvență „input" (aport alimentar și sinteză) și o secvență „output" (catabolismul lor prin hidroliză), ambele secvențe găsindu-se sub influența unui complex aparat reglator.

Integrarea metabolismului AG și TG se face prin intermediul căilor neurohormonale care acționează în special la nivelul ficatului, țesutului adipos și mușchilor.

1.4. FOSFOLIPIDELE

I.4.1. GENERALITĂȚI

Fosfolipidele sînt lipide complexe al căror rol în organism a fost ignorat multă vreme. Evidențierea lor în structura membranelor, fapt ce le conferă o răspîndire ubicuitară în corpul uman, a dus la reconsiderarea importanței lor fiziologice și biochimice. Astfel, fosfolipidele au încetat să mai fie privite drept componente ale unor structuri statice, așa cum era interpretată membrana celulară. Studii de anvergură, consecință a îmbunătățirii metodelor de investigare, au generat progrese importante în acest domeniu al lipidologiei (1).

Din punct de vedere biochimic, fosfolipidele se definesc ca molecule formate din : alcool, bază azotată și acizi grași superiori. În funcție de tipul fiecărei componente, se deosebesc două clase majore de fosfolipide : glicerofosfolipide și sfingofosfolipide (1, 2, 3).

A. GLICEROFOSFOLIPIDELE

Glicerofosfolipidele sînt formate din glicerol, două molecule de acizi grași superiori, o moleculă acid fosforic, o bază azotată care poate fi colină, (fosfatidilcolină, lecitină), etanolamină (etanolaminfosfo-

lipide sau cefaline), serină (serinfosfolipide) sau un polialcool, inozitolul (inozitolfosfolipide). Formula lor generală este reprodusă în figura I.54. Unii autori desprind inozitolfosfolipidele ca o grupă aparte de fosfolipide (4, 5).

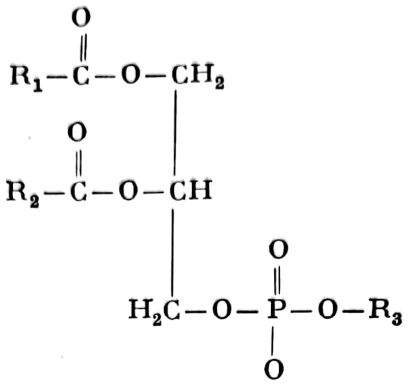


Fig. I.54. — Formula generală a glicerofosfolipidelor.
R_1 și R_2 reprezintă acizii grași ; R_3 este locul de introducere al colinei, etanolaminei, serinei, inozitolului.

Lecitinele, una din cele mai răspîndite subgrupe de fosfolipide la om, au un acid gras saturat (palmitic sau stearic), iar celălalt nesaturat (linoleic sau arahidonic) (1). Pot fi prezenți și alți AG, de unde rezultă o mare variabilitate a lecitinelor, în funcție de specia animală (4).

O variantă de glicerofosfolipide este reprezentată de plasmalogeni, care, la poziția 1 (fig. I.54), printr-o legătură esterică, fixează o aldehidă cu lanț lung (1).

B. SFINGOFOSFOLIPIDELE (SFINGOLIPIDE, FOSFOSFINGOIDE)

Sfingofosfolipidele au formula generală redată în figura I.55. Alcoolul este format din sfingozină (aminoalcool nesaturat cu lanț lung,

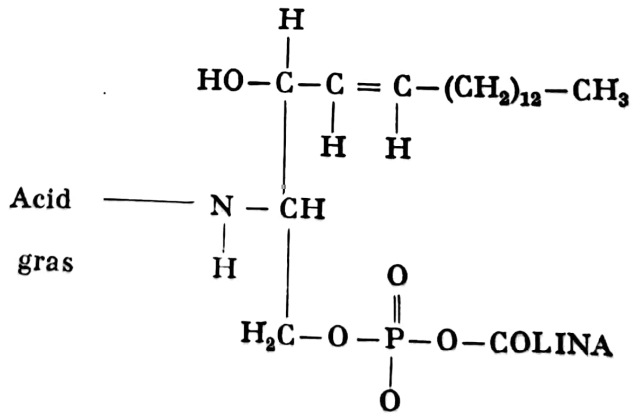


Fig. I.55. — Formula generală a sfingolipidelor.

1) care, prin gruparea amidică, se leagă de acidul gras, iar prin funcția alcoolică se leagă de acidul fosforic esterificat cu colina (5). Acizii grași mai frecvent întîlniți în structura sfingofosfolipidelor sînt : acidul pal-

mitic, lignoceric şi nervonic (5). Sfingofosfolipidele sînt răspîndite în special în ţesutul nervos unde participă la formarea tecilor de mielină. Dintre acestea, sfingomielina este cea mai cunoscută, fiind formată din acid lignoceric şi fosforilcolină, care esterifică gruparea alcoolică terminală a sfingozinei.

O caracteristică extrem de importantă a sfingofosfolipidelor (ca şi a glicerofosfolipidelor) cu reprezentanţii săi mai răspîndiţi — lecitina şi sfingomielina este prezenţa în molecula lor atît a grupărilor hidrofilice (fosfaţii şi grupările bazice), cît şi a grupărilor hidrofobe (lipofile) reprezentate de acizi graşi, colină şi sfingozină (3). Aceasta permite moleculelor respective să fie parţial hidrofile şi parţial hidrofobe putînd fi încadrate în grupul substanţelor amfipate (1).

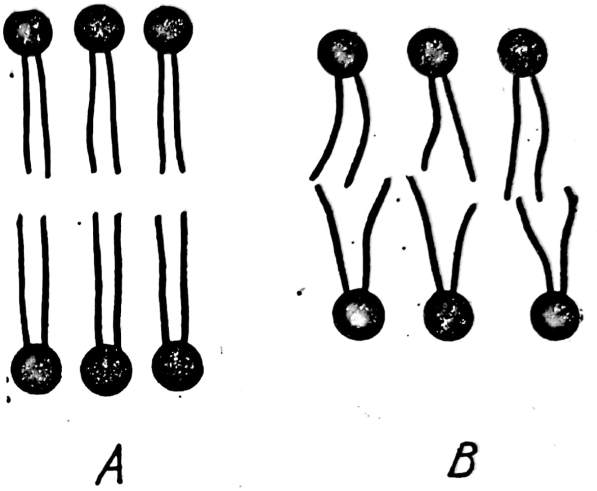


Fig. I.56. — Reprezentarea schematică a structurii fosfolipidelor (secţiune transversală). Grupările hidrofilice sînt reprezentate de punctele negre; grupările hidrofobe sînt redate sub forma liniilor orientate spre interiorul sistemului.
A = faza cristalină, B = faza lichid-cristalină — după Jackson şi Gotto, 3.

Fosfolipidele se pot prezenta sub două modalităţi structurale aşa cum sînt redate în figura I.56 (3). În forma cristalină, grupările hidrofobe sînt foarte apropiate, pe cînd în starea de lichid-cristalin, grupările hidrofobe, respectiv acizii graşi, sînt mai mult în stare fluidă. Trecerea de la prima formă la cea de a doua se face sub influenţa temperaturii şi este marcată, sub raport structural, de o creştere a mobilităţii acizilor graşi (topire) şi de o tasare a formaţiunii (3).

Aceste particularităţi structurale conferă moleculelor de fosfolipide proprietăţi deosebit de importante, în sistemele membranate. Deşi fosfolipidele nu reprezintă o sursă energogenă, ele îndeplinesc în corpul omului funcţii extrem de importante:

— sînt componente de bază ale membranelor celulare, mitocondriale, microsomiale (1, 3, 4, 9, 10);

— participă la structura lipoproteinelor, în cadrul cărora au rol „solubilizant" (6);

— acelaşi rol solubilizant îl îndeplinesc în intestin asupra gliceridelor şi în bilă asupra colesterolului (7, 8, 9);

— constituie o sursă de acizi graşi pentru esterificarea colesterolului (11, 12);

— participă la reglarea sintezei RNA prin influenţarea RNA polimerazei (13);

— joacă un rol important în liza eritrocitelor şi a trombocitelor (1), cît şi în activarea enzimelor lizozomiale leucocitare (14);

— un tip de lecitină face parte din surfactantul pulmonar (1);

— fosfatidilserina participă la excitaţia neurală (15) ;
— etanolamina este implicată în coagularea sanguină (etapa transformării protrombinei în trombină (6).

Participarea fosfolipidelor la sistemele membranare trebuie înţeleasă atît în sensul conceptelor clasice elaborate de Danielli (citat de 1), cît şi prin prisma achiziţiilor recente vizînd interacţiunea hormoni-receptori membranari (3), sau transportul electrolitic transmembranar, aşa cum este ilustrată în fig. I.57, conform concepţiei lui Rodbell.

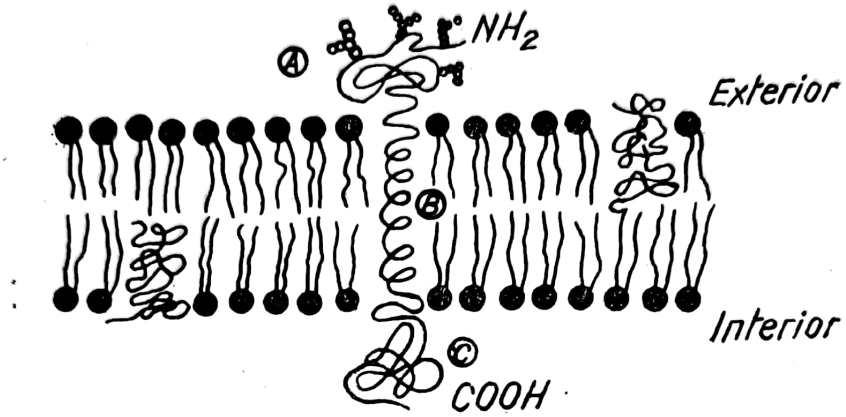


Fig. I.57. — Structura membranelor celulare, preconizată de Rodbell — după Jackson şi Gottom, 3.

I.4.2. POOL-URILE ŞI CINETICA FOSFOLIPIDELOR

În ciuda cercetărilor intensive din acest sector al lipidologiei, cunoştinţele asupra *pool*-urilor şi cineticii fosfolipidelor sînt deficitare. Aceasta se explică prin particularităţile metabolice ale acestor compuşi. Astfel, Polonovski afirmă : „nu există un metabolism ci mai multe metabolisme ale fosfolipidelor" (12), aceasta avînd la bază individualitatea metabolică a principalelor fosfolipide umane. Se adaugă încă un element care îngreuiază interpretarea topografică sau cinetică a metabolismului fosfolipidic şi anume, stricta lor dependenţă de lipoproteine, de fapt unica formă sub care există în plasmă (12).

Pe de altă parte, se obişnuieşte defalcarea metabolismului fosfolipidic în :

a) „marele metabolism" (big metabolism) cu referire la absorbţie, transport şi sinteză (12) ;

b) metabolismul „de finețe" (fine metabolism), care cuprinde interconversiunile glicerofosfolipidice (12).

Iată suficiente elemente care împiedică momentan o sinteză vizînd *pool*-urile şi sinteza fosfolipidelor.

Se poate totuşi afirma că, în corpul uman, există mai multe *pool*-uri fosfolipidice diferenţiate atît topografic, cît şi funcţional (12) (ele vor fi amintite în contextul corespunzător). Schimburile între *pool*-urile fosfolipidice sînt foarte limitate, deoarece fosfolipidele fiind legate de pro-

teine specifice, nu trec liber de la o structură la alta (12). În experiențe în care s-au întrebuințat fosfolipide marcate s-a observat un timp de înjumătățire al radioactivității plasmatice a diferitelor fosfolipide aproximativ egal (12). Turnoverul fosfolipidelor este apreciat la mai puțin de 1—2 g/24 ore, dintre care mai redus este cel al sfingomielinei (25, 26). Analiza turnoverului acizilor grași din compoziția fosfolipidelor evidențiază, de asemenea, un comportament diferit, probabil datorită interconversiunii fosfolipidelor (12).

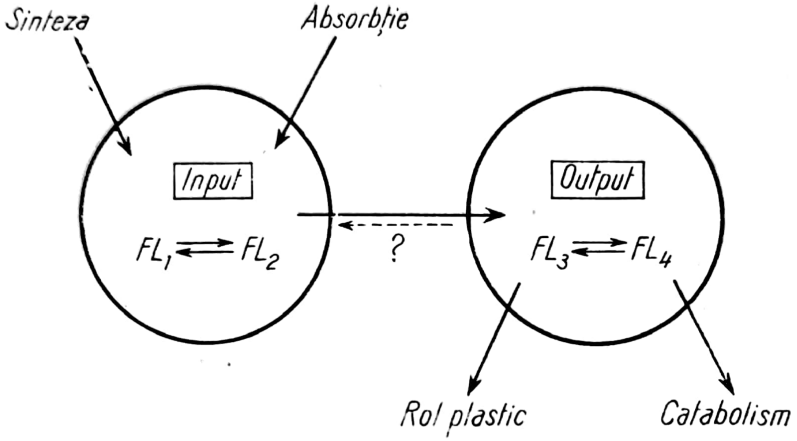


Fig. I.58. — **Compartimentarea metabolismului fosfolipidelor, conform sistemului „input-output". FL_1, FL_2, FL_3, FL_4 simbolizează posibilitatea interconversiunii glicerofosfolipidelor.**

În cadrul sistemului „input-output" metabolismul fosfolipidelor ne apare sistematizat astfel (fig. I.58) :

— secvența „input" este formată din sinteza predominant hepatică și minimă intestinală a fosfolipidelor și din aportul lor alimentar ;

— secvența „output" cuprinde angajarea fosfolipidelor în diferite sisteme plastice (membranare sau lipoproteinice), sau catabolizarea lor.

În cadrul ambelor secvențe au loc și interconversiunile fosfolipidice.

I.4.3. SECVENȚA „INPUT" A METABOLISMULUI FOSFOLIPIDIC

Conform sistematizării abordate și în cazul celorlalte fracțiuni lipidice, acest subcapitol cuprinde numai sinteza fosfolipidelor, urmînd ca, ulterior, să detaliem aspectele legate de absorbție.

A. SINTEZA FOSFATIDILCOLINEI (LECITINEI) ȘI FOSFATIDILETANOLAMINEI (CEFALINEI)

Sinteza acestor fosfolipide are la bază unirea digliceridului rezultat din acidul fosfatidic cu colina sau etanolamina activate (fig. I.59). Vom detalia secvențele principale.

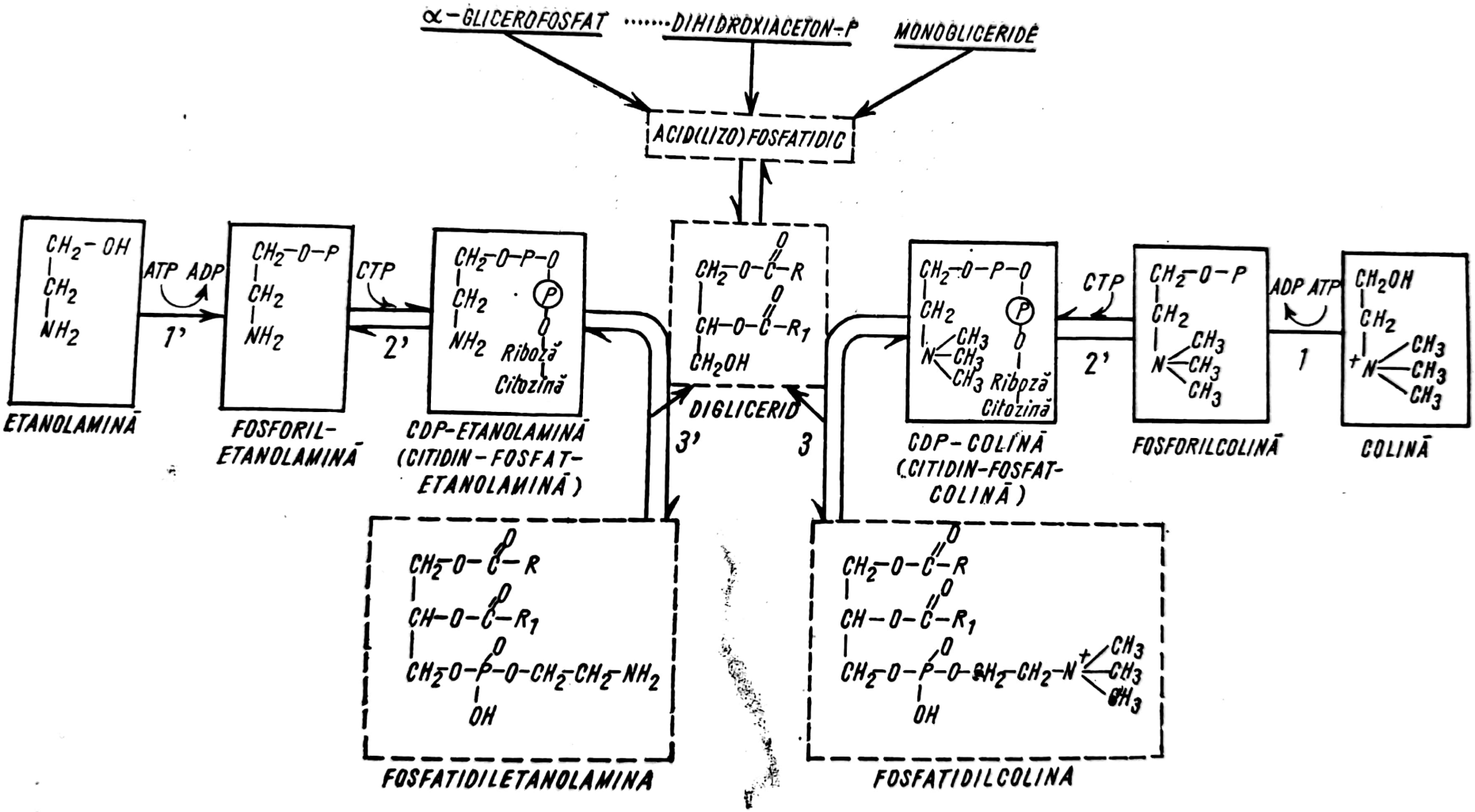


Fig. I.59. — Sinteza fosfatidiletanolaminei (cefalina) și a fosfatidilcolinei (lecitina).

Formarea acidului fosfatidic (lizofosfatidic). Este o etapă precursoare sintezei propriu-zise a fosfolipidelor, dar foarte importantă. Acidul fosfatidic poate rezulta din :

— alfa-glicerofosfat, acesta la rîndul lui fiind produsul glicolizei sau al transformării glicerolului prin acţiunea glicerokinazei (fig. I.43) ;

— dihidroxiacetonfosfat care, trecînd printr-o etapă intermediară de acil-dehidroxiacetonfosfat, furnizează acid lizofosfatidic sub acţiunea dehidrogenazei NADP dependente (16, 17) ;

— monogliceride care, împreună cu ATP şi monogliceridkinaza, formează acidul lizofosfatidic (18) ;

— fosforilarea digliceridelor cu ATP sub acţiunea digliceridkinazei, rezultînd acid fosfatidic (19).

Digliceridele. Rezultă din acid fosfatidic sub acţiunea fosfotidic-acid-fosfatazei (fig. I.43).

Activarea colinei şi/sau etanolaminei. Se face cu ajutorul ATP-ului şi acidului citidin-trifosfatcolină (respectiv fosforil etanolamină şi citidin-fosfat etanolamină). Enzimele necesare sînt : o chinază ATP dependentă (secvenţa 1 şi 1′) fosforilcolincitidil transferaza, respectiv fosforil-etanolamin transferază (secvenţa 2 şi 2′).

Unirea CDP colinei (CDP) etanolaminei cu digliceridul. Se face sub acţiunea fosforilcolinglicerid transferazei (fosforiletanolamingliceridtransferaza) rezultînd fosfatidilcolina (lecitina) şi fosfatidiletanolamină (cefalină) (secvenţa 3 şi 3′) (16).

B. SINTEZA SFINGOMIELINEI

Are la bază unirea CDP colinei cu N-acil-sfingozină. Etapele precursoare ale acestei reacţii finale sînt pe de o parte activarea colinei, iar pe de altă parte formarea N-acilsfingozinei (ceramidă). Aceasta la rîndul ei presupune unirea sfingozinei cu un acil CoA cu lanţ lung (acid lignoceric, 24). Catabolizarea reacţiei de unire a ceramidei cu CDP colina se face de către fosforilcolincaramidtransferaza (1, 16). Completarea schemei sintezei sfingomielinei se face prin etapele precursoare sintezei sfingozinei (fig. I.60), pe calea acidului palmitic — palmitil CoA-aldehidă palmitică care se va uni cu serina, activată la rîndul ei de către piridoxal (P) ; produsul intermediar rezultat este o dehidroxi-sfingozină. Aceasta se va transforma în sfingozină, sub acţiunea unei flavinenzime (4).

C. INTERCONVERSIUNEA FOSFOLIPIDELOR

Cuprinde totalitatea reacţiilor prin care se formează noi fosfolipide, plecîndu-se de la precursori, sau trecîndu-se dintr-o formă finită în altă formă finită. În fig. I.4.8. sînt redate aceste posibilităţi :

a) fosfatidiletanolamina (cefalina) prin trei metilări succesive, sub acţiunea S-adenozin-metioninei, se transformă în fosfatidil-colină (lecitină) (20). Fenomenul este deosebit de important deoarece este tangent cu încercările terapeutice de prevenire şi tratare a steatozei hepatice ;

Scanned with OKEN Scanner

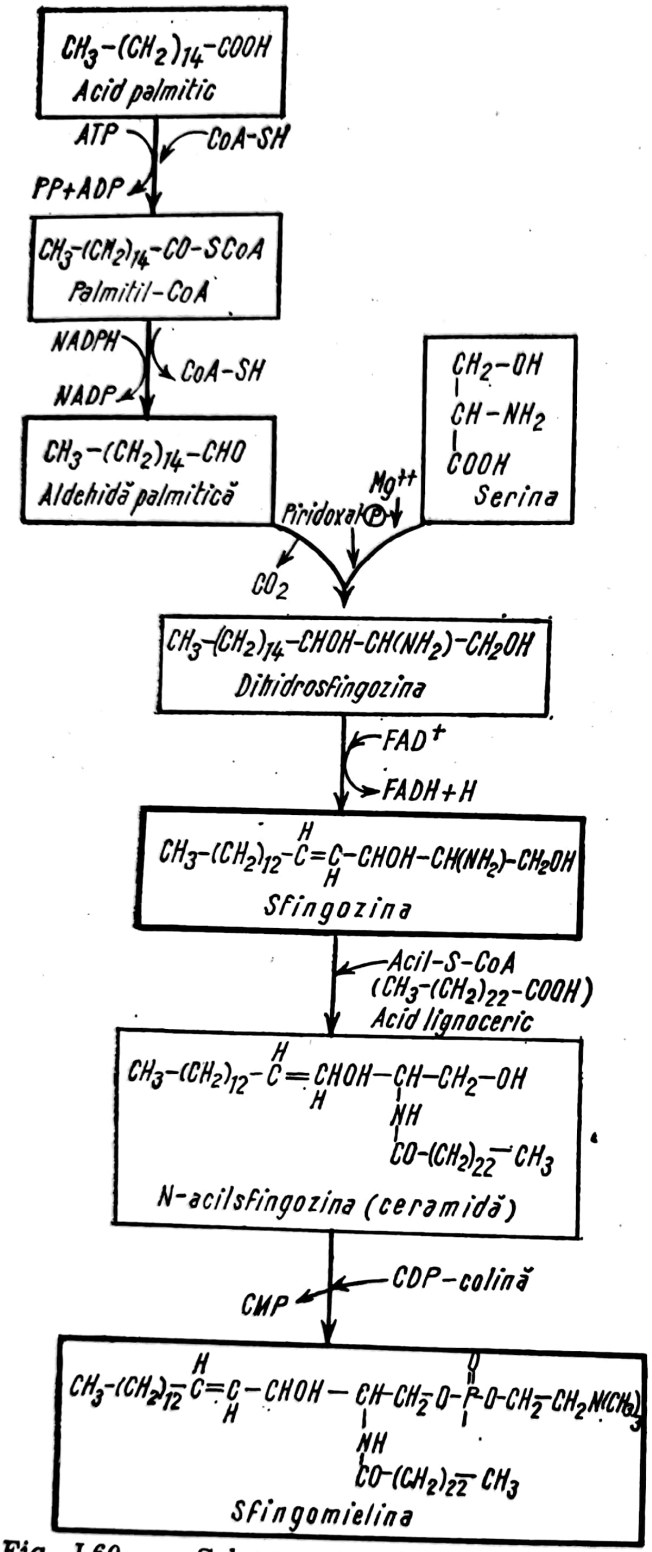


Fig. I.60. — Schema simplificată a sintezei sfingomielinei — după Mazzur și Harrow, 4.

b) fosfatidiletanolamina poate rezulta din decarboxilarea fosfatidilserinei (21) ;

c) acidul fosfatidic se activează prin intermediul CTP ; produsul intermediar rezultat, CDP — diglicerid (CDP—DG) se transformă în fosfatidildigliceridă (cardiolipină), sau în fosfatidilnozită (în prezența inozitolului) (1) ;

d) transformarea lecitinei în izolecitină și fosforilcolină este una din cele mai cunoscute și frecvente reacții de interconversiune fosfolipidică (fig. I.4.8). Se cunosc patru mecanisme prin care se poate produce această transformare (12) ;

— prin acțiunea ICAT (11) ;

— în urma catalizării produse de fosfolipaze. Se cunosc mai multe lipaze serice la om și animale (numite A, B, C și D), punctele lor de acțiune fiind marcate în formula fosfatidilcolinei (fig. I.61). La om, activarea fosfolipazelor s-a obținut prin tripsină (12) ;

— un mecanism similar este notat în cazul activității fosfolipazice postheparinice ; activitatea enzimatică în acest caz este diferită de cea a fosfolipazelor obișnuite sau de cea a lipoproteinlipazei. Se crede că nu are rol fiziologic (12) ;

— se invocă și alte mecanisme răspunzătoare de hidroliza lecitinei, unul dintre ele fiind prezent în timpul coagulării (12).

În plasmă, transformarea lecitinei în lizolecitină se produce în permanență, avînd consecințe extrem de importante :

— pe de o parte, modifică structura și proprietățile fizico-chimice ale lipoproteinelor (12) ;

— pe de altă parte, se generează lizolecitina care părăsește lipoproteinele, se unește cu albumina și apoi se atașează prompt de membranele celulare (eritrocite, celule endoteliale etc.). La acest nivel are loc reconvertirea izolecitinei și lecitinei în prezența AGL plasmatici sau intracelulari (12). Grație acestei „mobilități", lizolecitina are cel mai activ metabolism dintre fosfolipidele umane (12).

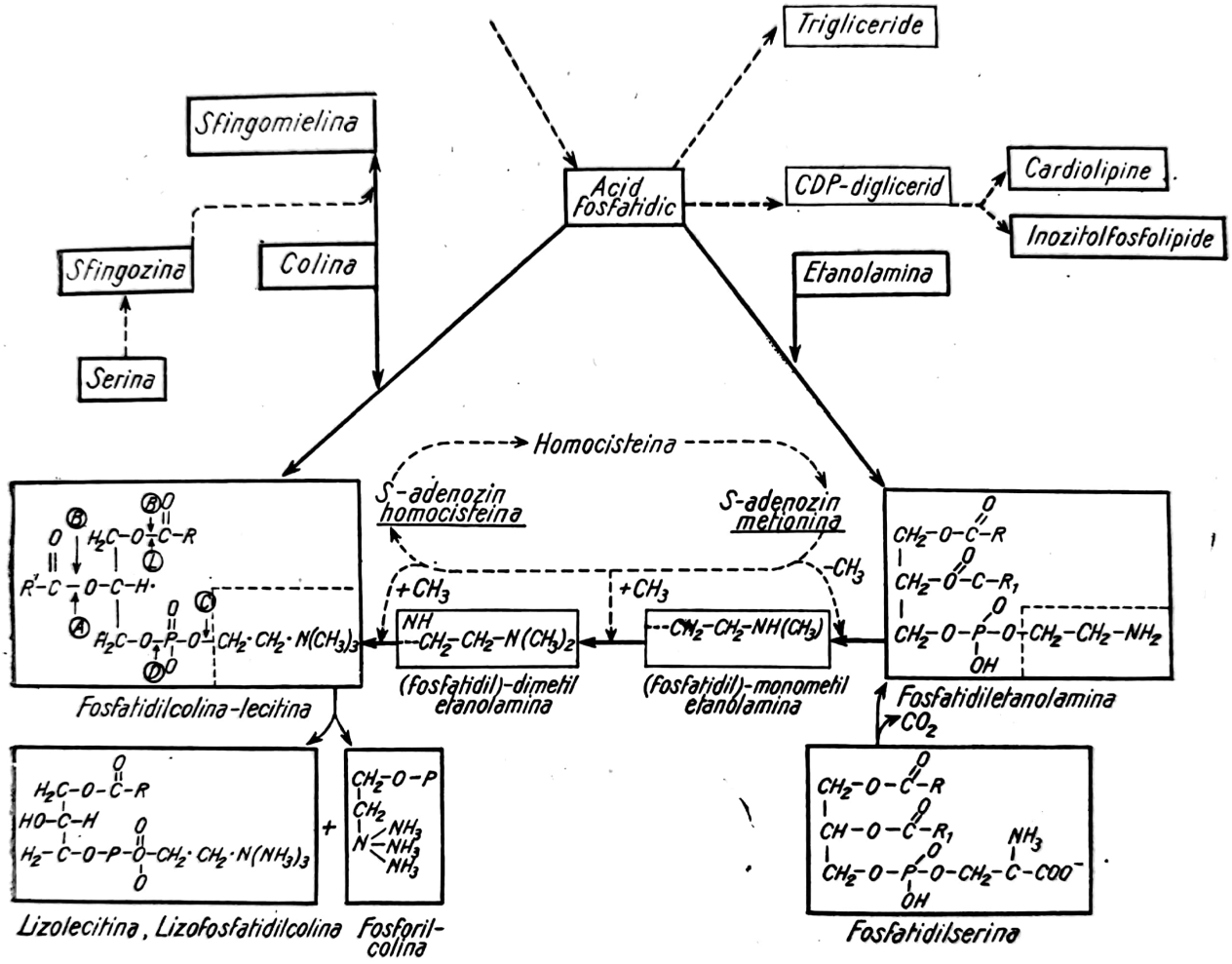


Fig. I.61. — Schema simplificată a interconversiunii fosfolipidelor; detalierea se referă la etapele metilării fosfatidil etanolaminei, la transformarea lecitinei în lizolecitină și fosforilcolină, cît și la decarboxilarea fosfatidilserinei cu formarea fosfatidiletanolaminei. Literele încercuite din formula lecitinei marchează punctele de acțiune ale fosfolipazelor.

D. TOPOCHIMIA BIOSINTEZEI FOSFOLIPIDELOR

Biosinteza fosfolipidelor se produce predominant în ficat și în cantitate redusă în celulele intestinale, în relație directă cu sinteza lipoproteinelor. Amintim că reticulul endoplasmatic este locul sintezei fosfolipidelor și al proteinelor necesare lipoproteinosintezei (12), cu mențiunea că :

— apoproteinele sînt sintetizate în ribosomi, în timp ce,

— fosfolipidele sînt produsul reticulului fin. Unirea lor are loc în aparatul Golgi (12). În ficat, fosfolipidele se găsesc în două *pool*-uri : un *pool* legat de biosinteza lipoproteinelor şi alt *pool* stabil (12).

E. REGLAREA BIOSINTEZEI FOSFOLIPIDELOR

Este în mare parte necunoscută. Se postulează influenţarea biosintezei fosfolipidelor de către ritmul sintezei apoproteinelor sau al secreţiei hepatice de lipoproteine (16). Elucidarea problemei este împiedicată de lipsa momentană a unei metodologii adecvate de studiu. La aceasta se adaugă insuficienta cunoaştere a reacţiilor enzimatice implicate în biosinteza fosfolipidelor.

I.4.4. SECVENŢA „OUTPUT" A METABOLISMULUI FOSFOLIPIDIC

Secvenţa „output" cuprinde cele două linii metabolice majore amintite :

— angajarea fosfolipidelor din secvenţa „input" în sistemele plastice cunoscute : lipoproteinosinteza sau sistemele membranare ;

— catabolizarea propriu-zisă a fosfolipidelor.

În secvenţa „output" a sistemului, conform sistematizării noastre, se găsesc elementele reacţiilor de interconversiune fosfolipidică (cuprinsă dealtfel şi în secvenţa „input").

Majoritatea studiilor se referă la transformarea lecitinei în izolecitină la animale, extrapolarea lor în totalitate la om fiind dificilă.

Degradarea sfingomielinei este, de asemenea, deficitar cunoscută. Sfingomielinaza ar fi o enzimă care ar hidroliza sfingomielina în acid gras, sfingozină şi fosforilcolină.

În concluzie, departe de a fi cunoscut în întregime calitativ, cantitativ şi reglator, metabolismul fosfolipidelor oferă totuşi un exemplu convingător de progres în lipidologie. Îmbunătăţirea metodologiei de investigaţie va aduce în mod neîndoielnic noi descifrări în acest capitol. Ele pot fi prefigurate de pe acum ca avînd aplicabilitate, în special terapeutică (stabilizatori ai membranelor celulare).

REZUMAT

Fosfolipidele sînt lipide complexe avînd un important rol plastic în organism. Metabolismul lor este foarte complicat, cuprinzînd o secvenţă „input" şi una „output" a fiecărei subclase de fosfolipide. Fenomenele devin mai complexe datorită posibilităţii de interconversiune fosfolipidică. Ambele secvenţe sînt reglate de un aparat neurohormonal al cărui mecanism este încă neprecizat.

Scanned with OKEN Scanner

II. LIPOPROTEINELE

II. 1. INTRODUCERE

II.1.1. DEFINIȚIE ȘI ISTORIC

Lipidele și proteinele pot forma complexe care, din punctul de vedere al proprietăților fizico-chimice și al semnificației lor, sînt de două feluri (1) :

— lipoproteinele, ce păstrează proprietatea proteinelor de a se solubiliza în apă și soluții saline diluate (1) ;

— proteolipidele, solubile numai în solvenți organici, fiind prezente în plasmă doar în condiții patologice (1).

La începutul acestui secol, Nerking (citat în 2) intuiește existența legăturii chimice între lipide și proteide plasmatice, însă numai în anul 1929, Macheboeuf (citat de 1, 2) izolează pentru prima dată lipoproteinele din plasma de cal. Acuratețea experiențelor sale a dus la concluzia că lipidele serice sînt legate de o proteină specifică. Ulterior, experiențe centrate asupra lipidelor s-au eșalonat în mai multe perioade pe care, arbitrar, le putem împărți astfel :

— Perioada necesară studiilor separării claselor de lipoproteine, care începe cu încercările timide ale lui Blix, Tiselius și Svensson, din anul 1941 (citat de 2), de a delimita electroforetic două tipuri de lipide serice (cu fracțiunile alfa-1 și cu fracțiunile beta-globulinice). În anul 1945, Pedersen (citat de 2) utilizează pentru prima dată ultracentrifuga în studiul lipoproteinelor, dar ulterior, în anul 1949, metoda este preluată și folosită în diferențierea claselor lipoproteice de către Goffman și colab. (2). Ei sînt aceia care demonstrează în mod convingător că lipoproteinele au mărimi moleculare și densități diferite care permit încadrarea lor în patru clase : chilomicronii, LP cu densitate foarte joasă (VLDL), lipoproteine cu densitate joasă (LDL) și lipoproteine cu densitate crescută (HDL). Ulterior se evidențiază subclasele de lipoproteine, ceea ce converge spre ideea unui sistem eterogen polidispersat al fiecărei clase majore de LP (2). Aceste elemente, migrarea electro-

Scanned with OKEN Scanner

foretică şi izolarea prin ultracentrifugare sînt valabile şi astăzi ca metode de bază în studiul claselor de LP.

— Perioada elucidării compoziţiei lipide a LP, declanşată de recunoaşterea rolului aterogen al lipidelor plasmatice, se interpătrunde cu prima perioadă, avînd însă ca finalitate o concluzie care, deşi astăzi nu mai este valabilă, pentru perioada anilor 1950—1960 a însemnat un progres. Este vorba de conceptul conform căruia, LP se diferenţiază numai graţie constituenţilor lipidici (componenta proteică era eludată) (2).

— Perioada studierii componentei proteice, care se bazează pe lucrările de pionierat ale lui Gustavson, Alaupovic, Furman (3), Nichols (4) şi şcolii lui Fredrickson (5) dintre anii 1964—1967. În acea etapă se elaborează conceptul apoproteinelor A, B, C drept componente esenţiale ale HDL, LDL şi VLDL (5). După anul 1967, se izolează mai multe componente polipeptidice ale lipoproteinelor, demonstrîndu-se astfel diversitatea LP şi din acest punct de vedere (6). Alaupovic (7) propune chiar o nouă clasificare al LP, bazată atît pe densitatea LP, cît şi pe diversitatea apoproteinelor.

Caracteristicile fizico-chimice generale (simplificat după

Parametrii caracteristici	Clasele de			
	Particule lipidice		VLDL	
	Chilomicroni	Particule secundare	Particule endogene	VLDL
Nomenclatura electroforetică	Chilomicroni		Pre-β lipoproteine	
Caracteristici ultracentrifugale Densitate: g/ml Variaţia densităţii: g/ml Constanta de flotaţie — Sf	1,006 400—15 000	1,006 400—15 000	1 006 >400	1 006 0,94—1 006 20—400
Mobilitate electroforetică — pe hîrtie — bloc de amidon	La origine α_2	La origine β	pre-β-cu rest α_2—β	pre-β α_2
Greutatea moleculară	$(0,4-30)\times 10^9$	$(0,4-30)\times 10^9$		$(5-10)\times 10^6$
Diametru (A°)	750—6 000	750—6 000		250—750
Forme	Sferică	Sferică	Sferică	Sferică
Originea	Exogenă	Exogenă	Endogenă	
Raportul: lipide/proteine	99 : 1 98 : 2	99 : 1 98 : 2	97 : 3	92 : 8
Prezenţa în singe	După alimentaţie grasă		După alimentaţie nelegat de grăsimi	Normal

Ulterior se defineşte compoziţia aminoacizilor lanţurilor peptidice, se precizează aminoacizii „N" şi „C" terminali, graţie cărora astăzi există chiar tendinţa de a defini cele 3 tipuri de apo LP cunoscute. Imunologia bazată pe studiul anticorpilor specifici A, B, C şi-a adus, de asemenea, o contribuţie importantă la elucidarea problemei apoproteinelor.

Datorită acumulărilor cantitative progresive, sînt necesare revizuiri de detaliu ale conceptului, fără a afecta conceptul însuşi, deoarece este neîndoielnic faptul că, clasele majore ale LP trebuie diferenţiate pe baza proprietăţilor fizice, chimice, imunologice şi ale componentei proteice la care se adaugă lipidele (în măsură mai mică).

Graţie cercetărilor lui Fridrickson şi şcolii sale, cît şi a sintezelor teoretice elaborate de el, în prezent se conchide că anomaliile lipoproteice sînt dominate de afectarea apo LP şi nu de componenta lipidică.

II.1.2. CARACTERISTICI FIZICO-CHIMICE GENERALE

În tabelul II.1. şi figura II.1. sînt redate principalele caracteristici

Tabelul II. 1

ale claselor lipoproteice plasmatice
Skipski – 1)

lipoproteine					
	HDL			Reziduul ultracentrifugal	
LDL	HDL_1	HDL_2	HDL_3	VHDL	Complexul AGL-albumină
β-Lipoproteine		α-Lipoproteine			Albumine
1 063 1 006–1 063 0–20	1 063 0–3	1 125 1 063–1 125 Sediment	1 210 1 125–1 210 Sediment	1 250 1 210–1 250 Sediment	1 250 >1 250 Sediment
β		α	α		Albumină
β		α_1	α_1		Albumină
$(2,2-3,5)\times 10^6$		$3,86\times10^5$	$1,86\times10^5$	$1,51\times10^5$	69×10^{3n}
170–260 Sferică		60–140 Unele sînt alungite	40–100		Elipsoidală
Endogenă		Endogenă		Endogenă	
79 : 21		59 : 41	44 : 56	38 : 62	1 : 99
Normal		Normal	Normal	Normal	Normal

fizico-chimice ale lipoproteinelor serice (după Skipski, 1). Adaptarea nomenclaturii LP este bazată atît pe diferențierea ultracentrifugală (în funcție de densitate), cît și pe migrarea electroforetică (în capitolul IV se vor da detalii asupra tehnicilor respective).

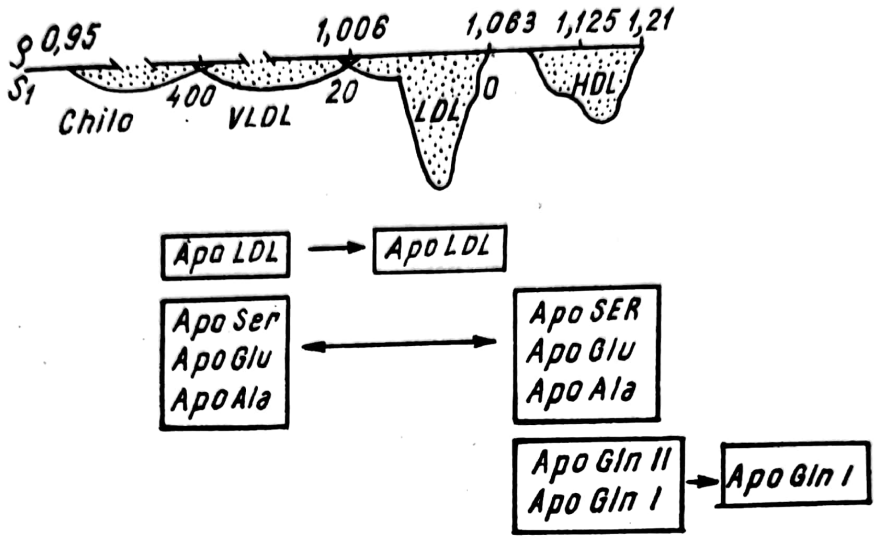


Fig. II.1. — Reprezentarea schematică a lipoproteinelor plasmatice izolate prin ultracentrifugare — după Fredrickson, 22.

A. DIFERENȚIEREA LIPOPROTEINELOR DUPĂ CARACTERELE ULTRACENTRIFUGALE

Densitatea LP, mai mică decît cea a proteinelor, este determinată de raportul lipide/proteine din macromolecula lor. Acesta variază (tabelul II.1) de la 99/1 în cazul chilomicronilor, pînă la 1/99 în cazul complexului AGL-albumină din reziduul ultracentrifugal. Densitatea cea mai mică este caracteristică LP cu procentajul cel mai ridicat de lipide (chilomicroni) crescînd proporțional cu scăderea lipidelor și augmentarea procentului de proteine din macromoleculă (1).

Densitatea de 1,063 g/ml este considerată limita între LDL și HDL. La rîndul lor, LDL se diferențiază în mod curent în VLDL (densitatea $< 1{,}006$) și LDL propriu-zise (densitate 1,006—1,063 g/ml). Cea mai mică densitate o au însă chilomicronii (0,960 g/ml), HDL au densitatea mai mare de 1,063—1,210 g/ml), fiind împărțite în două subclase majore HDL_2 : densitate cuprinsă între 1,063—1,125 g/ml și HDL_3 cu densitatea între 1,125—1,210 g/ml și o subclasă minoră : HDL_1 cu densitate de 1,063 g/ml, lipsită de importanță practică (1,8). Fracțiunile rămase sînt cunoscute sub numele de reziduu ultracentrifugal (9) avînd densitate 1,21 g/ml. S-a reușit subfracționarea lor în LP cu densitate foarte mare : VHDL (densitate = 1,210—1,250 g/ml) și subfracția formată din complexul AGL-albumină și lizolecitină (densitate mai mare 1,250 g/ml).

Un alt parametru de diferențiere ultracentrifugală a LP este „constanta de flotație" (Sf) exprimată în unități Svedberg (10^{-13} cm/sec-

dyne/g). Urmărind valorile Sf în clasele sau subclasele de LP, se observă variabilitatea în compoziţie a acestora. Astfel, chilomicronii au Sf cuprinse între 400—15 000, în timp ce VLDL se caracterizează prin Sf variind între 20—400. LDL au Sf redus oscilînd între 0—20. LP cu densitate mare nu pot fi apreciate prin utilizarea Sf (1).

B. DIFERENŢIEREA LIPOPROTEINELOR DUPĂ MIGRAREA ELECTROFORETICĂ

Lees şi Hatch, în anul 1963 (10), au fost cei care au propus diferenţierea LP prin electroforeza pe hîrtie în mediu de albumină. Prin această metodă se separă :

— chilomicroni, care nu migrează rămîn la spot ;

— pre-beta-lipoproteinele, corespunzător VLDL şi particulelor endogene, sînt betaglobulinele ;

— beta-lipoproteinele, care migrează cu beta-globulinele corespunzînd LDL ;

— afla-lipoproteinele care corespund HDL şi migrează cu alfa-globulinele.

S-au introdus şi alte metode pentru diferenţierea LP, bazate pe principiul electroforezei ; electroforeza în bloc de amidon (11, 12), în gel de agar, agaroză, acetat de celuloză, policrilamidă, polivinilpirolidonă (detalii asupra metodologiei vor fi redate în capitolul IV). Trebuie precizat de pe acum că „à jeun“ în plasma unui subiect sănătos nu se găsesc chilomicroni, aceştia fiind deci de origine exogenă. Pre-beta-LP se găsesc în mod normal în plasmă, dar nu se evidenţiază decît cu anumite tehnici electroforetice. Beta-LP apar constant în toate cazurile fiind alături de pre-beta-LP, de origine endogenă.

Alţi parametri definitori sînt :

— greutatea moleculară exprimată în bilioane în cazul VLDL, în milioane în cazul LDL şi în sute de mii pentru HDL;

— diametrul molecular, care variază de la 6 000 Å (chilomicroni) la 40 Å în cazul HDL_3 (14). Tangent cu discuţia referitoare la acest parametru, există o variantă de nomenclatură utilizată în cazul macromoleculelor lipoproteice ce au diametru mai mare de 0,1 microni (5, 15). Este vorba de „particulele exogene“ (chilomicroni sau particulele primare şi particulele secundare), cît şi de „particulele endogene“ (VLDL).

II.1.3. ORGANIZAREA STRUCTURALĂ A LIPOPROTEINELOR

Organizarea structurală a LP nu este încă elucidată, în pofida studiilor intensive care o abordează. Se cunoaşte compoziţia lipidică, se cunosc o parte din lanţurile peptidice, dar există necunoscute asupra apoproteinelor, relaţiei lipide-proteine, a tipurilor legăturilor dintre ele, în sfîrşit, asupra organizării structuralo-spaţiale a macromoleculei lipoproteice. Astfel, datorită numărului mare de lipide în comparaţie cu proteinele, în cadrul macromoleculei LP, nu toate li-

pidele sînt în contact direct cu proteinele, ele putînd fi numai în asociație (1). În cazul cînd există un contact lipoproteic, legăturile între ele sînt fie de tip noncovalent (16), fie covalente (17) în număr mai redus, dar care probabil au un rol deosebit în organizarea structurală a moleculei LP (1). În figura II.2. (după Fredrickson, 22) este redată dilema asupra relației intramoleculare lipide-apoproteine.

În figurile II.3, 4 și 5 sînt reproduse unele ipoteze asupra organizării structurale a lipoproteinelor, bazată pe existența „centrală" a

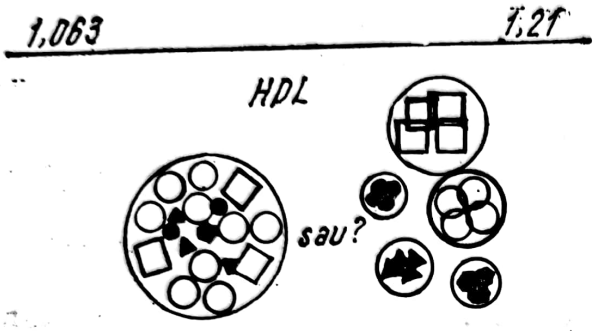


Fig. II.2. — Reprezentarea schematică a dilemei: „lipoproteinele sînt complexe, sau combinații simple ori multiple ale apoproteinelor cu lipidele ?" — după Fredrickson 22.

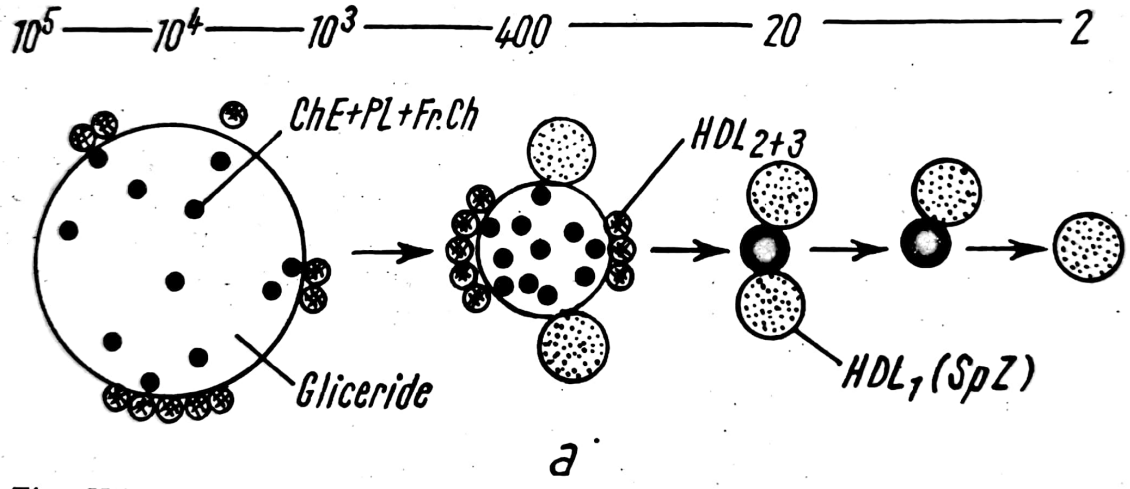


Fig. II.3. — Reprezentarea schematică a structurii chilomicronilor și HDL — după Lindgren și Nichols, 18.

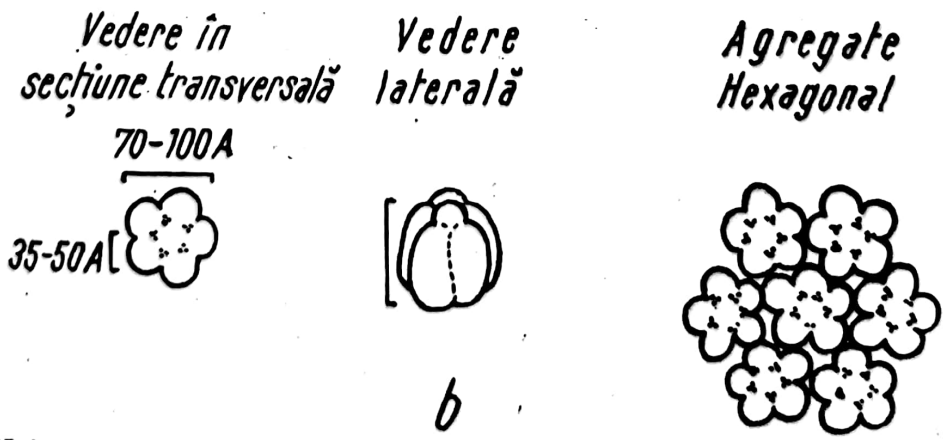
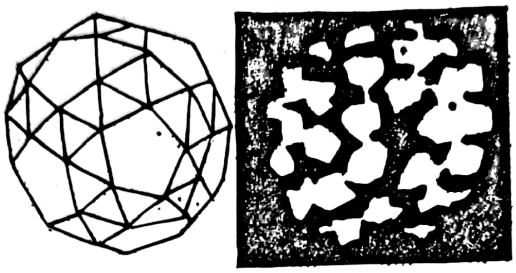


Fig. II.4. — Reprezentarea schematică a HDL în concepția lui Forte și colab., 194.

lipidelor (diferențiate cantitativ și calitativ), alături de proteinele care le învelesc (și ele diferențiate cantitativ și calitativ).

Din anul 1969, grație lui Say și Levy, dispunem de o nouă ipoteză asupra structurii lipoproteinelor conform căreia moleculele lipoproteice se împart în două grupe:

1. LDL, HDL_2, HDL_3 a căror substructură este vizibilă la microscopul electronic ;
2. VLDL și chilomicronii cu o substructură ce nu poate fi evidențiată prin electronomicroscopie.



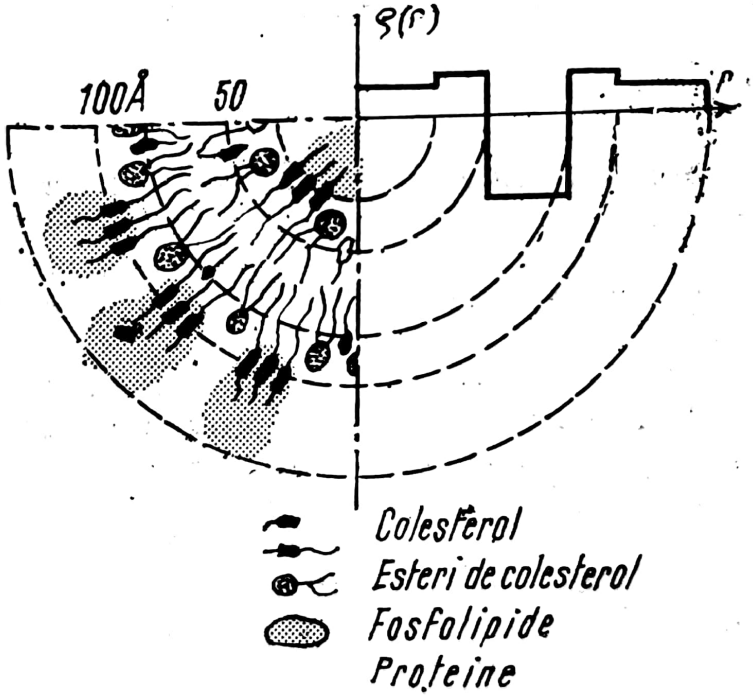


Fig. II.5. — Reprezentarea schematică a structurii **LDL** — după **Mateu și colab., 195.**

Lipoproteinele din grupul 1 sînt formate din unități repetitive numite „lipotide", care sînt alcătuite din lanțuri peptidice helicoidale, la care fosfolipidele sînt atașate prin forțe electrostatice. Fosfolipidele sînt așezate față în față între cele două straturi de fosfolipide fiind lipide nepolare (trigliceride, colesterol, colesterol esterificat) care, prin

intermediul forțelor hidrofobice ale lanțurilor acizilor grași din fosfolipide, se leagă de acestea formînd unul sau mai multe straturi de lipide nepolare (asemănător unui sandwich). Grupările hidrofilice ale fosfolipidelor sînt dispuse la suprafața moleculei pe care, în felul acesta, o stabilizează.

Lipotidul se atașează prin două legături lipidice de lanțul peptidului (nehelicoidal, nelipidic) care prin construcție repetitivă devine polipeptid, asemănător cu structura terțiară a proteinelor globulare (1, 20).

Toate cercetările converg spre ideea rolului de stabilizator jucat de fosfolipide în molecula de HDL (1), cît și a importanței deosebite pe care unirea fosfolipidelor cu apo-HDL îl are în formarea moleculei de HDL (1, 20).

A doua grupă de lipoproteine, chilomicronii și VLDL, au structuri asemănătoare.

La microscopul electronic, chilomicronii apar formați dintr-o porțiune centrală și un înveliș extern. Porțiunea centrală, globulară, alcătuită din trigliceride și foarte puțini esteri de colesterol, reprezintă cea mai mare parte din moleculă. Învelișul extern este de origine necunoscută, fiind format din proteine, fosfolipide și colesterol liber, nereușind însă să acopere în întregime centrul trigliceridic (1, 21).

II.1.4. APOLIPOPROTEINELE

Alaupovic definește apoproteinele ca proteine care se leagă prin legături predominant noncovalente cu lipidele neutre și fosfolipidele pentru a forma familii polidispersate de lipoproteine (2). În ultimii ani s-au propus numeroase nomenclaturi pentru diferențierea și definirea apoproteinelor.

În anul 1967, Fredrickson și colab. (5), apoi Alaupovic în anul 1968 (7) propun clasificarea componentei proteice a lipoproteinelor în : apolipoproteina A, apolipoproteina B, apolipoproteina C.

Alaupovic consideră că fiecare din aceste apo-LP sînt caracteristice pentru anumite LP, propunînd chiar o clasificare a acestora în trei familii distincte pe baza componentei proteice. Totuși, această clasificare, deși reprezintă o concepție originală îndrăzneață, prima dealtfel care utilizează migrarea electroforetică și densitatea pentru diferențierea lipoproteinelor, nu poate fi acceptată în întregime. Aceasta datorită faptului că :

— s-au izolat pînă în prezent 6 tipuri de apo-LP ;

— fiecare familie LP este formată din mai multe tipuri apo-LP, dintre care unul este predominant.

În baza acestor date, cît și a inducerii genetice a sintezelor proteice, se poate vorbi de eterogenitatea apo-LP indusă de un polimorfism genetic (6).

Scanned with OKEN Scanner

intermediul forțelor hidrofobice ale lanțurilor acizilor grași din fosfolipide, se leagă de acestea formînd unul sau mai multe straturi de lipide nepolare (asemănător unui sandwich). Grupările hidrofilice ale fosfolipidelor sînt dispuse la suprafața moleculei pe care, în felul acesta, o stabilizează.

Lipotidul se atașează prin două legături lipidice de lanțul peptidului (nehelicoidal, nelipidic) care prin construcție repetitivă devine polipeptid, asemănător cu structura terțiară a proteinelor globulare (1, 20).

Toate cercetările converg spre ideea rolului de stabilizator jucat de fosfolipide în molecula de HDL (1), cît și a importanței deosebite pe care unirea fosfolipidelor cu apo-HDL îl are în formarea moleculei de HDL (1, 20).

A doua grupă de lipoproteine, chilomicronii și VLDL, au structuri asemănătoare.

La microscopul electronic, chilomicronii apar formați dintr-o porțiune centrală și un înveliș extern. Porțiunea centrală, globulară, alcătuită din trigliceride și foarte puțini esteri de colesterol, reprezintă cea mai mare parte din moleculă. Învelișul extern este de origine necunoscută, fiind format din proteine, fosfolipide și colesterol liber, nereușind însă să acopere în întregime centrul trigliceridic (1, 21).

II.1.4. APOLIPOPROTEINELE

Alaupovic definește apoproteinele ca proteine care se leagă prin legături predominant noncovalente cu lipidele neutre și fosfolipidele pentru a forma familii polidispersate de lipoproteine (2). În ultimii ani s-au propus numeroase nomenclaturi pentru diferențierea și definirea apoproteinelor.

În anul 1967, Fredrickson și colab. (5), apoi Alaupovic în anul 1968 (7) propun clasificarea componentei proteice a lipoproteinelor în : apolipoproteina A, apolipoproteina B, apolipoproteina C.

Alaupovic consideră că fiecare din aceste apo-LP sînt caracteristice pentru anumite LP, propunînd chiar o clasificare a acestora în trei familii distincte pe baza componentei proteice. Totuși, această clasificare, deși reprezintă o concepție originală îndrăzneață, prima dealtfel care utilizează migrarea electroforetică și densitatea pentru diferențierea lipoproteinelor, nu poate fi acceptată în întregime. Aceasta datorită faptului că :

— s-au izolat pînă în prezent 6 tipuri de apo-LP ;

— fiecare familie LP este formată din mai multe tipuri apo-LP, dintre care unul este predominant.

În baza acestor date, cît și a inducerii genetice a sintezelor proteice, se poate vorbi de eterogenitatea apo-LP indusă de un polimorfism genetic (6).

Scanned with OKEN Scanner

Acumularea datelor de mai sus nu infirmă conceptul lui Alaupovic, ci invită la precizări de detaliu care vor completa această clasificare chimică a LP.

Pentru a se evita confuziile, redăm, în tabelul II.2., terminologia adoptată în cazul celor 6 apoproteine cunoscute pînă astăzi şi corespondenţa lor în alte nomenclaturi uzitate. Reţinem că, uneori, apo LP ala, glu şi ser sînt definite ca „proteinele C" sau „apoproteinele cu greutate moleculară joasă".

Tabelul II.2

Tabel rezumativ asupra nomenclaturii apolipoproteinelor bazată pe aminoacidul carboxi-terminal. În paralel se redau corespondenţele lor în: nomenclatura clasică care utilizează literele A, B, C pentru definirea apolipoproteinelor; familiile lipoproteice propuse de Alaupovic; alte denumiri; aminoacidul terminal; şi componentele antigenice (după Fredrickson – 22 şi Alaupovic – 2)

Nomenclatura în funcţie de aminoacidul carboxi-terminal	Nomenclatura clasică (A–B–C–)	Familiile lipoproteice (Alaupovic)	Alte denumiri	Aminoacidul N-terminal	Componentele antigenice
apo-LP-Ser	apo–C	LP–2	C I D_1 R–VAL fracţia V	Treonina	unic–C I
apo LP–GLU			C II, D_2 R–GLU fracţia V	Treonina	unic–C II
apo LP–ALA			C III, D_3, D_4 R–ALA fracţia V	Serina	unic–C III
apo LAL	apo–B	CB–B	B apo LP-SER R-ser	Acidul glutamic	unic ca şi LP–B–
apo LP–THR	apo–A	LP–A	A I, R–GLN I R_1–THR, R_2-THR R_3–TAR Fracţia III–IV	Acidul aspartic	UNIC A I
apo LP–GLN			A II, R–GLN–II R–GLN Fracţia IV Fracţia III	Blocat	UNIC A II

Apo-LP se încadrează, din punct de vedere funcţional, în mecanismul complex al transportului lipidelor în cadrul moleculelor LP. În ultimii ani, s-au precizat şi alte funcţii ale apo-LP cum ar fi catalizarea LCAT de către apo-LP-glu I (rol de cofactor), sau activarea LPL de către apo-LP-glu (22).

Toate aceste aspecte structuralo-funcţionale conferă studiului apo-LP un caracter fascinant. Se prefigurează chiar funcţii şi acţiuni mai importante, pasibile de elucidarea unor fapte încă neexplicabile.

II.2. CHILOMICRONII

II.2.1. INTRODUCERE

Termenul de chilomicroni a fost propus în anul 1920 de către Gage (citat de 1), care definea astfel particulele vizibile la microscopul cu contrast de fază, în sîngele subiecților care au consumat un prînz bogat în lipide. Ulterior s-a demonstrat că de fapt chilomicronii reprezintă forma principală de absorbție și transport al glicerilor și acizilor grași alimentari. Astăzi ei sînt cuprinși în grupul mai larg al „particulelor lipidice" sanguine care se împart în (1, 5, 11, 12) :

— particule exogene, formate din particulele primare (chilomicroni) și particulele secundare ;

— particulele endogene reprezentate de VLDL de origine intestinală și/sau hepatică.

Particulele primare reprezintă lipidele exogene alimentare fiind prezente în limfă, din ductul toracic de unde, prin vena jugulară, se varsă în circulația sistemică venoasă apoi arterială. Acestea reprezintă adevărații chilomicroni.

Particulele secundare sînt tot de origine exogenă. Inițial s-a crezut că sînt produse în ficat, dar experiențele efectuate pe cîine, de către Bierman (26), au dovedit că de fapt particulele secundare derivă din particulele primare în momentul în care acestea vin în contact cu trigliceridele lipoproteinelor plasmatice.

Ambele forme de particule exogene sînt condiționate de alimentația grasă după care, timp de 6 ore concentrația lor sanguină este maximă. S-a demonstrat că particulele primare sînt primele care dispar din sînge (după 6 ore), în timp ce particulele secundare persistă încă cîteva ore. Oricum, după 12—14 ore, în sîngele subiectului sănătos nu mai sînt puși în evidență chilomicroni sau particule secundare (1, 12, 27).

Particulele endogene apar predominant postalimentar, dar nelegate de aportul exogen de grăsimi și sînt reprezentate de VLDL sintetizate în celulele intestinale sau ficat. Sînt prezente în mod normal în celule.

În tabelul II.1. sînt redați principalii parametri de diferențiere a celor trei tipuri de particule lipidice sanguine.

II.2.2. COMPOZIȚIA LIPIDICĂ A CHILOMICRONILOR UMANI

În tabelul II.3. este redat conținutul în lipide al chilomicronilor umani în stările postabsorbtive (prînz gras). Se remarcă cantitatea foarte mare de lipide dintre care marea majoritate sînt trigliceride (81,3—88%). Colesterolul, cu cele două forme ale sale, este într-o proporție extrem de

Tabelul II.3

Conținutul în lipide al chilomicronilor serici sau plasmatici la om în stările postabsorbtive (prînz gras) (simplificat după Skipski – 1)

Lipidele .... WT %	După Lindgren și colab. (1959)	După Bragdon și colab. (1956)	După Wood și colab. (1964)	După Zobst și Schettler (1957)
Lipide totale	98	97,5	97,5	—
Trigliceride	88	81,3	84	86,5
Colesterol liber	1	3,1	0,8	2,8
Colesterol esterificat	1,8	3,6	1,7	2,8
AGL	1	—	urme	—
Fosfolipide	8	7,1	9	5,8

redusă. Fosfolipidele au fost evidențiate mai recent, comparativ cu celelalte fracții lipidice. Componența lor din chilomicroni este redată în tabelul II.4. unde se observă predominanța lecitinei (1, 28).

Tabelul II.4

Conținutul în fosfolipide al chilomicronilor la om, în stările postabsorbtive (prînz gras); în plasmă (prima coloană) și în limfă (coloana a doua) (simplificat după Skipski – 1)

Fosfolipidele .... din chilomicroni		după Wood (1964)	după Alaupovic 1968 (281)
Fosfolipide totale (% din lipide)		9	9,2
% din fosfolipidele totale	Fosfatidiletanolamină	5,6	6,9
	α Lecitină	78,5	56,9
	α Lizolecitină	4,2	10,2
	Sfingomielină	11,7	26,0

Distribuția acizilor grași în chilomicronii din plasmă este redată în tabelul II.5. Remarcăm o concentrație crescută a acidului palmitic (16:0), oleic (18:1), stearic (18:0) și linoleic (18:2). Acizii grași din trigliceridele chilomicronilor limfatici sînt influențați de alimentația lipidică într-un grad mai mare decît chilomicronii serici (30).

Tabelul II.5

Conținutul în acizi grași al chilomicronilor la om, à jeun (simplificat după Dole și colab. 29)

Tipuri de acizi grași	Saturați					Mononesaturați					Binesaturați	Polinesaturați		
	12:0	14:0	15:0	16:0	17:0	18:0	12:1	14:1	16:1	18:1	18:2	20:3	20:4	?
Compoziția %	1,8	3,6	0,8	22,8	0,5	10,6	0,6	1,4	2,6	18,4	8,3	1,9	0,3	12,8

II.2.3. COMPOZIȚIA PROTEICĂ A CHILOMICRONILOR UMANI

Descifrarea componentei proteice a chilomicronilor umani este de dată recentă. În anul 1972, se comunică faptul că în chilomicronii din limfa umană se evidențiază toate apoproteinele principale din VLDL, LDL, cît și ambele apoproteine principale din HDL (22, 31).

Levy și colab. (32) arată că în apoproteinele din chilomicroni crește cantitatea de cistină și scade izoleucina, în comparație cu apo LDL și apo VLDL sau apo HDL. La om, în timpul procesului de absorbție, apoproteinele din chilomicroni nu sînt constante din punct de vedere cantitativ. Astfel, inițial, apoproteina C se află în proporție redusă. După 3—6 ore, acest tip de apoproteină se transferă de pe HDL_2 pe chilomicroni ; aici concentrația lor crește (33). Concomitent, are loc transferul fosfolipidelor de pe chilomicroni pe HDL_2, unde concentrația lor crește (33).

II.2.4. SECVENȚA „INPUT" ÎN METABOLISMUL CHILOMICRONILOR

Sistematizarea metabolismului chilomicronilor conform sistemului „input-output" se face astfel (fig. II.6).

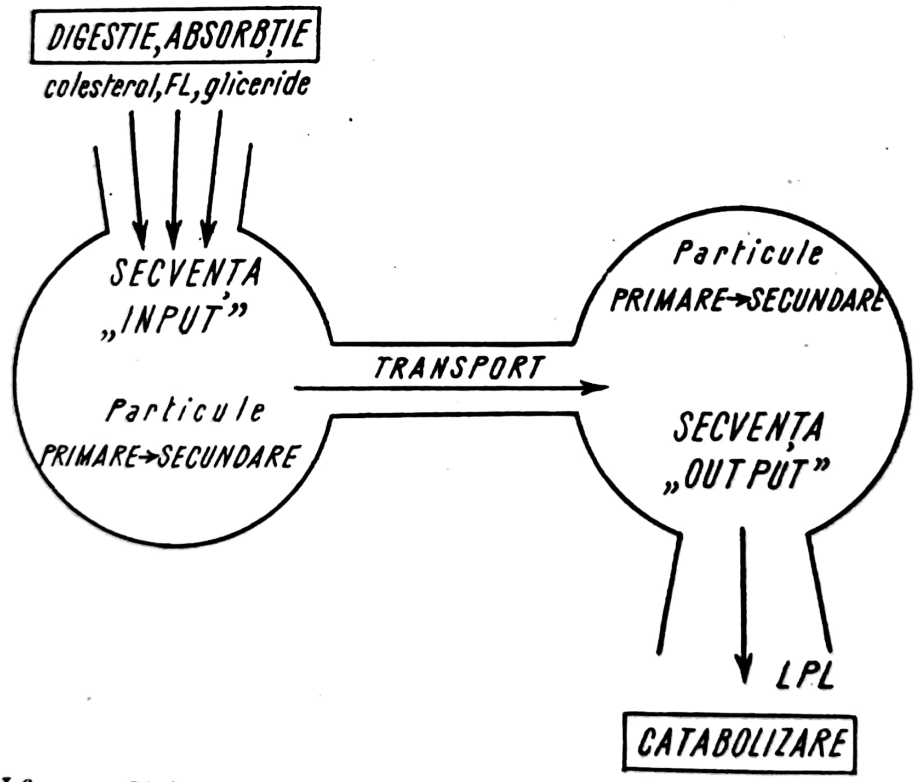


Fig. II.6. — Sistematizarea metabolismului chilomicronilor conform sistemului „input-output". FL=fosfolipide.

— Secvența „input" este alcătuită din procesul complex de formare a chilomicronilor la nivelul celulelor intestinale, aceasta fiind de fapt finalitatea digestiei intestinale a grăsimilor și a absorbției lor.

— Secvența „output" presupune ieșirea din sistem a chilomicronilor, sub influența lipolitică a lipoproteinlipazei în special la nivelul țesutului adipos și muscular.

Între cele două secvențe se situează „transportul sanguin al chilomicronilor". Notăm faptul că, în momentul pătrunderii lor în circulația sanguină sistemică, o parte din particulele primare (adevărații chilomicroni) se transformă în particule secundare care, de asemenea, pot fi hidrolizate de către LPL. De fapt, sistemul enzimatic lipoproteinlipazic acționează și asupra VLDL.

MECANISMUL DE FORMARE AL CHILOMICRONILOR (DIGESTIA ȘI ABSORBȚIA LIPIDELOR)

În ultimii ani au fost publicate mai multe lucrări de sinteză asupra acestui subiect (34, 39), deosebit de interesant dar, din nefericire, încă neelucidat, în ciuda progreselor înregistrate.

În figura II.7. sînt redate schematic fazele digestiei și absorbției lipidelor de la nivelul jejunului, comparativ cu aceleași procese efectuate în cazul glucidelor și proteinelor (fig. II.8).

Conform sistematizării lui Wilson și Dietschy (34, 39), digestia și absorbția lipidelor se produc în mai multe faze : faza pancreatică sau lipolitică, faza solubilizării grăsimilor prin micelizare, faza captării (pătrunderii) în celula intestinală a produsului lipolitic, faza intra-

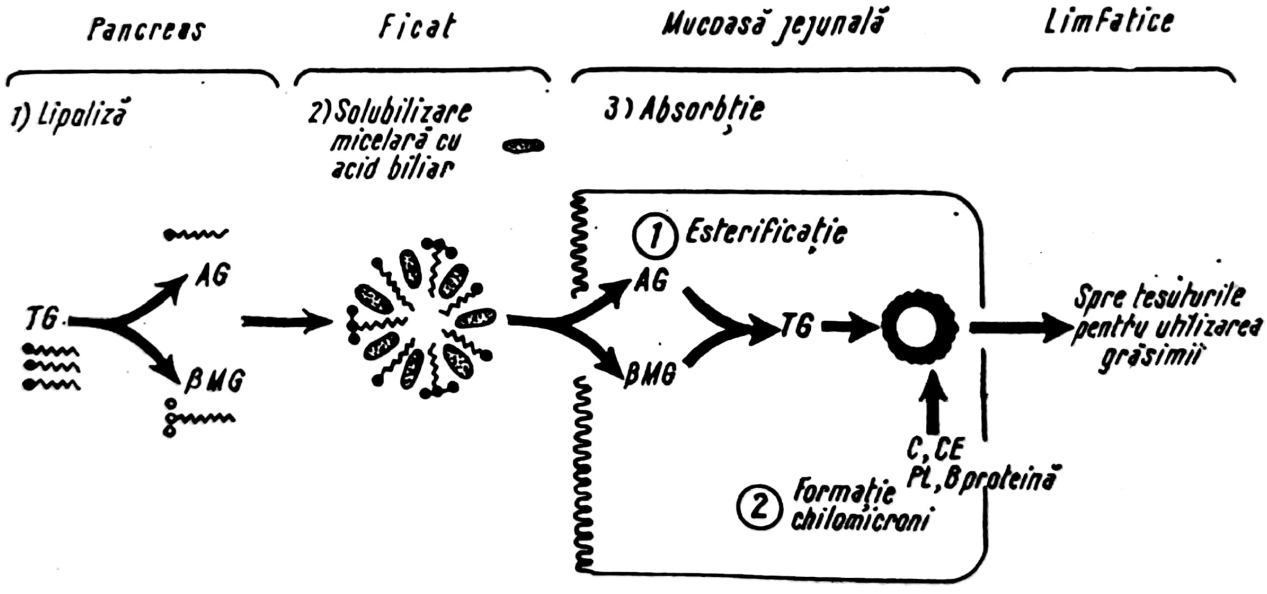


Fig. II.7. — Etapele principale ale digestiei și absorbției lipidelor alimentare — după Wilson și Dietschy, 39.

celulară și faza transportului extracelular al chilomicronilor care sînt absorbiți pe calea sistemului limfatic. Fiecare fază este compusă la rîndul ei din mai multe secvențe, întregul proces fiind foarte complex.

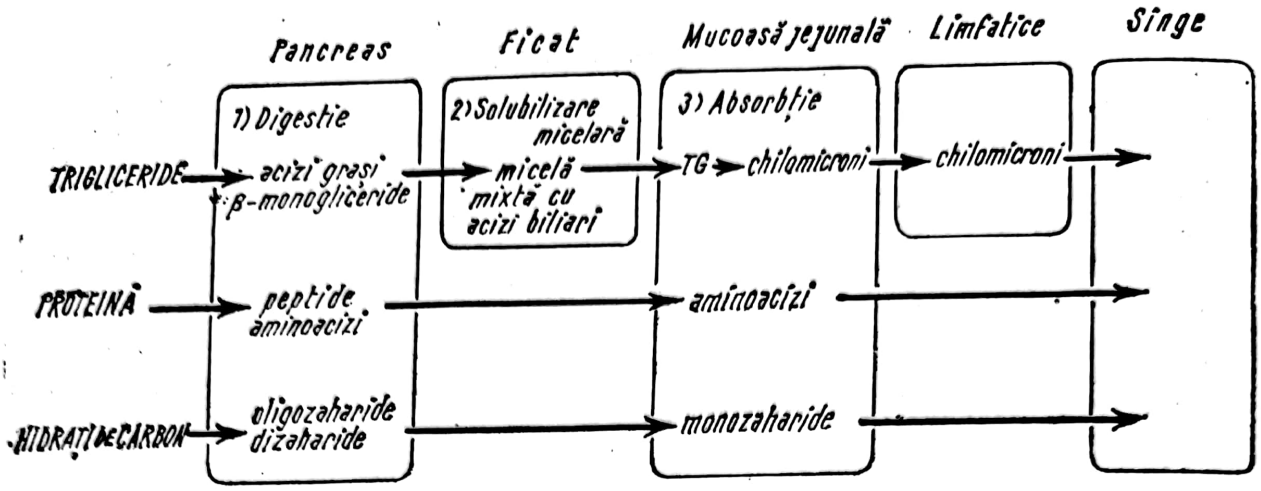


Fig. II.8. — Etapele principale ale digestiei și absorbției lipidelor, comparativ cu glucidele și proteinele — după Wilson și Dietschy, 39.

FAZA PANCREATICĂ SAU LIPOLITICĂ

Grăsimile neutre ingerate sînt în cantitate de aproximativ 50—100 g/24 h (39). Hidroliza lor are loc în jejun prin acțiunea lipazei pancreatice care desface legăturile alfa și alfa$_1$ ale trigliceridelor, rezultînd acizi grași cu lanț lung și betamonogliceride (34, 39). Lipoliza depinde de cantitatea lipazei prezente, *p*H-ul intestinal, absorbția produșilor rezultați prin hidroliză, prezența acizilor biliari care potențează acțiunea lipazei (40). Recent (202), s-a demonstrat că o lipază este secretată la nivelul faringelui. Acțiunea ei, care constă din hidroliza TG cu lanțuri lungi, în TG cu lanțuri scurte și AGL, are loc la nivelul stomacului. Aceasta ar fi prima etapă în digestia lipidelor.

Concomitent cu transformarea grăsimilor neutre în produși absorbabili, are loc și prelucrarea colesterolului exogen (capitolul I.2.).

FAZA SOLUBILIZĂRII PRIN MICELIZARE

Acizii grași cu un număr de carbon în lanț mai mare de 10, cît și betamonogliceridele sînt relativ insolubile în mediile care există în jejun. Totuși, după alimentație, grație prezenței bilei, se creează condiții optime pentru solubilizarea lor sub formă de micelii mixte. Componența finală a miceliilor va fi deci : AGL, betamonogliceride, 1-lizolecitina și colesterolul liber (35, 36, 38).

FAZA PĂTRUNDERII ÎN CELULĂ

În figura II.9 (după Simmonds, 38), sînt redate posibilitățile de transfer ale lipidelor din lumenul intestinal în celula absorbtivă a mucoasei jejunale și anume :

— cea mai mare parte din lipide (betamonogliceride, acizi grași cu lanț lung, colesterol) sînt prezentate epiteliului absorbtiv sub forma miceliilor (calea 2,2) ;

— un procentaj mai redus se pot prezenta pentru absorbţia în soluţii monomoleculare rezultate din picăturile intraluminale de grăsimi în absenţa miceliilor (calea 1.1), sau chiar în prezenţa lor (calea 2.3.1) (acizi graşi cu lanţ mediu) ;
— uneori colesterolul poate precipita.

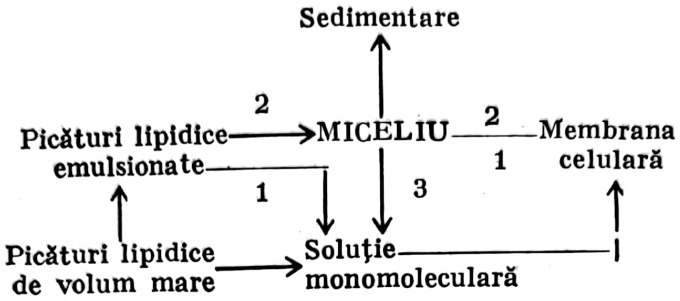


Fig. II.9. — Transferul lipidelor din lumen spre membrana celulei absorbtive — după Simmonds, 38.

Datorită rolului important jucat de micelizare, digestia lipidelor, din punct de vedere fizico-chimic, trebuie privită ca o convertire a moleculelor nepolare în produşi polari pentru a fi încorporaţi în micelii (38).

Deşi chilomicronii sînt definiţi ca transportori ai lipidelor exogene, în limfa din ductul toracic al animalelor „à jeun" se depistează lipide endogene chiar sub formă de particule. Se pare că şi la om fenomenul poate fi demonstrat. Amestecul lipidelor endogene cu lipidele exogene se poate produce intraluminal, intracelular sau în lichidul interstiţial. În figura II.10 sînt redate sursele lipidice endogene implicate în chilomicronoformare (38) :

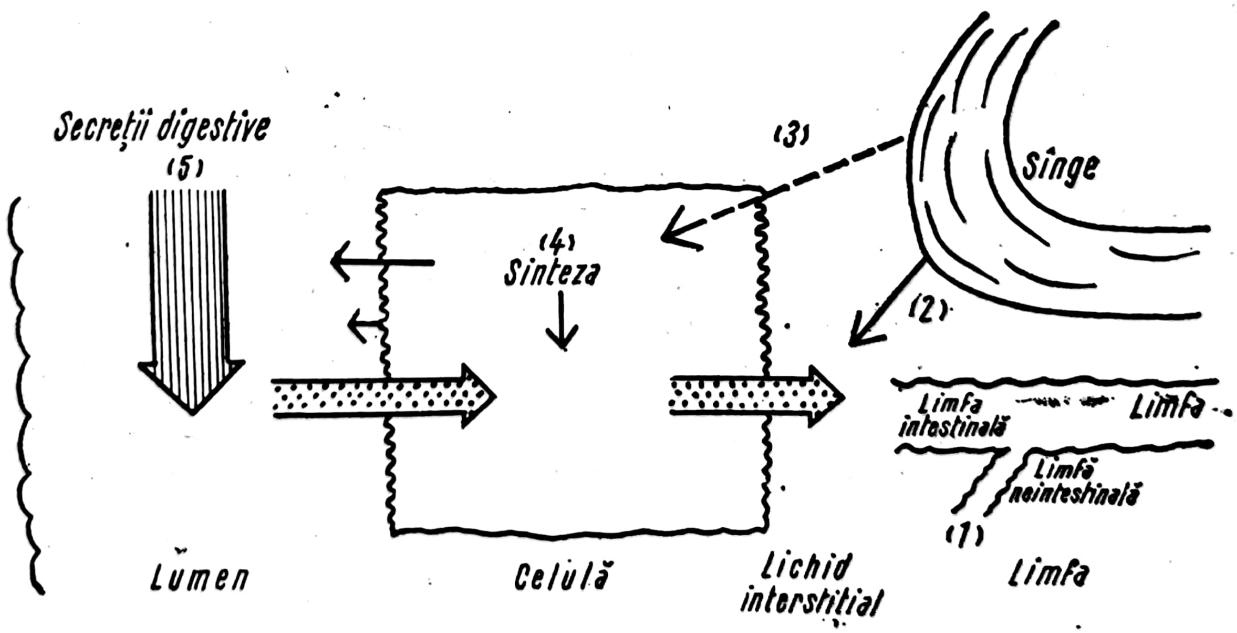


Fig. II.10. — Surse lipidice endogene în ductul toracic — modificat după Simmonds, 38 (explicaţii în text).

— penetrarea lipoproteinelor în ductul limfatic pe căi limfatice neintestinale (secvența 1), sau intestinale (secvența 2) ;

— pătrunderea din sînge a precursorilor nelipidici ai AGL în celula intestinală (secvența 3) unde vor participa la : sinteza „de novo" a lipidelor (secvența 4) și la absorbția lipidelor biliare (secvența 5). La acestea se adaugă intraluminal și lipidele altor secreții digestive, inclusiv ale secreției celulei intestinale absorbtive. Aceasta reprezintă, din punct de vedere cantitativ, sursa majoră a lipidelor endogene implicate în chilomicronoformare.

Totuși, lipidele endogene participă selectiv la sinteza unor lipide componente ale chilomicronilor. Astfel, ele sînt foarte importante pentru biosinteza colesterolului endogen, dar nu și pentru biosinteza acizilor grași. În același timp, acizii grași endogeni contribuie în mare măsură la sinteza intestinală a fosfolipidelor, esterilor de colesterol și mai puțin a trigliceridelor (38).

Mecanismul intim al pasajului transmembranar, nu se cunoaște. Dovezi recente susțin ideea conform căreia este vorba de difuziunea pasivă a componenților micelari și nu a miceliului în întregime (41, 42). Acesta ar avea deci, doar rol de vehicul pentru transportul acizilor grași și betamonogliceridelor spre microvilii absorbtivi (39).

Se înțelege că acizii grași cu lanț mediu, care, virtual, sînt independenți de faza micelară, se absorb ca atare, după solubilizarea lor ca soluție monomoleculară.

FAZA INTRACELULARĂ

Faza intracelulară reprezintă unul din momentele de mare importanță în absorbția lipidelor și formarea chilomicronilor. Ea cuprinde sinteza trigliceridelor, reesterificarea colesterolului și fosfolipidelor, asamblarea lipidelor pentru alcătuirea „centrului chilomicronic", formarea învelișului lipidoproteic al chilomicronilor.

a) *Sinteza trigliceridelor*

Sinteza trigliceridelor are loc pe două căi importante (fig. II.11) : pe de o parte acilarea succesivă a betamonogliceridelor în di- și trigliceride, iar pe de altă parte prin esterificarea acizilor grași activați cu alfa-glicerofosfat ; ambele căi urmează secvențele descrise la capitolele respective. Alfa-glicerofosfatul este generat pe calea glicolizei, glucoza fiind de proveniență intraluminală sau intracelulară. Chiar dacă glicerolchinaza este prezentă în celula absorbtivă, aportul căii glicerolice la formarea alfa-glicerofosfatului este minor (38). S-a demonstrat că prima cale este dominantă, din punct de vedere cantitativ, în sinteza intestinală a trigliceridelor (35).

Sursa intracelulară a acizilor grași, pe lîngă cea descrisă (miceliile cu acizi grași cu lanț lung sau soluțiile monomoleculare pentru acizii grași cu lanț mediu) poate fi completată de hidroliza betamonogliceridelor sub influența monoglicerid-lipazei (38).

Se presupune o legătură reglatoare între absorbția AGL, disponibilitatea de alfa-glicerofosfat și sinteza trigliceridelor. Astfel, aportul de AGL prin fistula limfatică experimentală, induce sinteza trigliceridelor numai pe calea alfa-glicerofosfatului, ceea ce înseamnă că aportul glucozei și calea glicolizei pot fi factorii limitanți ai sintezei (38). În

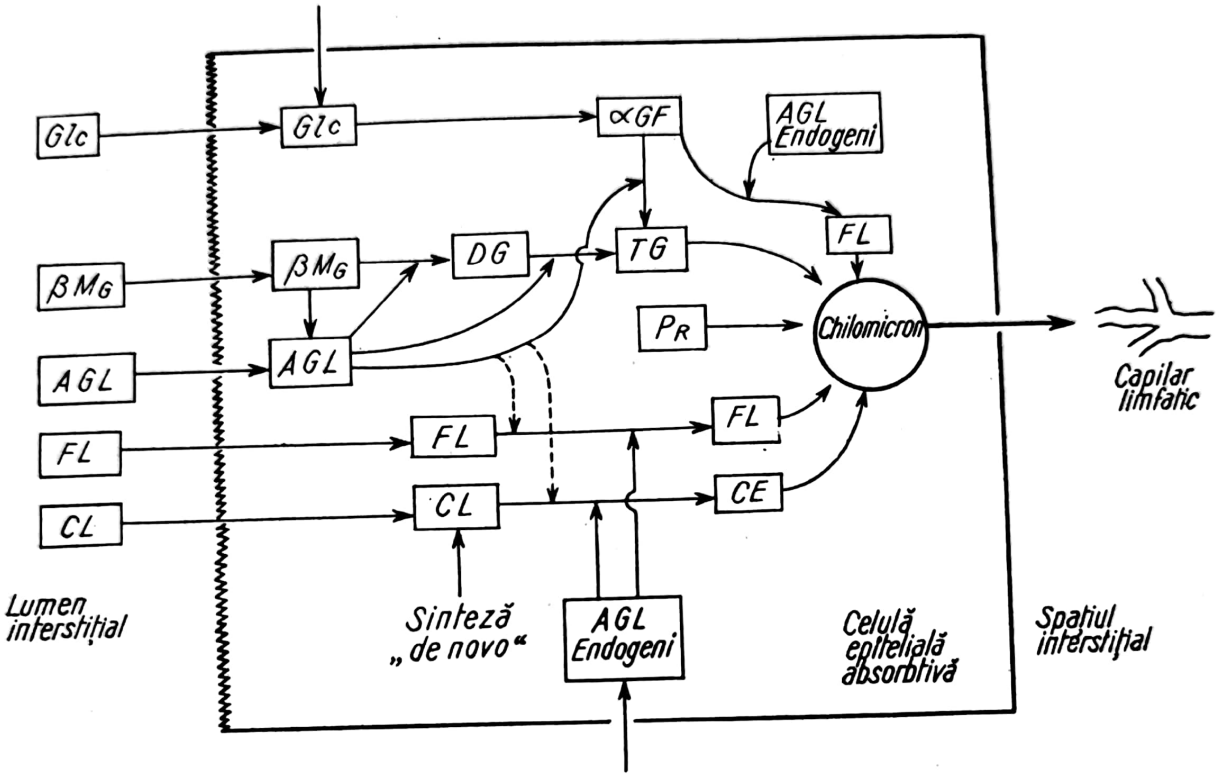


Fig. II.11. — Reprezentarea schematică a fazei intracelulare a absorbției lipidelor și chilomicronoformării. AGL endogeni participă la sinteza fosfolipidelor și esterificarea colesterolului, în timp ce AGL exogeni sînt implicați în sinteza trigliceridelor.

Glc = glucoză, beta — MG = monogliceride, DG = digliceride, Pr = proteine.

același timp, s-a semnalat că scăderea concentrației acizilor biliari în lumenul intestinal, scăzînd în același timp și micelizarea, induce mai mult depresia absorbției betamonogliceridelor comparativ cu a AGL.

b) *Esterificarea fosfolipidelor și a colesterolului*

Aproximativ 40% din lecitina chilomicronică provine din esterificarea lizolecitinei absorbite. Ea este de proveniență biliară (endogenă) sau alimentară (exogenă). O altă cale de sinteză intracelulară a fosfolipidelor este cea a alfa-glicerofosfatului prin secvențele descrise în capitolul I.4.

Acizii grași utilizați în sinteza fosfolipidelor sînt predominanți de origine endogenă. Proporția fosfolipidelor chilomicronice depinde de cantitatea lipidelor din limfă (38).

Reesterificarea intracelulară se produce mai mult cu acizi grași endogeni, dintre care preferențial, acidul oleic (36, 38).

Rolul acizilor biliari în sinteza trigliceridelor, esterificarea colesterolului şi a fosfolipidelor, nu este elucidat. Exceptînd acţiunea lor micelizantă, se intuieşte doar un efect activator exercitat la suprafaţa celulelor absorbante, asupra sintezei trigliceridelor şi esterificării colesterolului (asemănător cu relaţia hormon-adenilciclază) (38). Trebuie reţinut că s-a demonstrat un efect inhibitor cert exercitat de acizii biliari asupra proceselor metabolice intracelulare (44, 45).

c) *Asamblarea lipidelor*

Asamblarea lipidelor constituente în vederea finalizării chilomicronilor nu este în întregime cunoscută. Sinteza trigliceridelor are loc în membrana reticulului endoplasmatic, sistemul enzimatic responsabil de aceasta fiind izolat în microsomi (46, 47). Precursorii trigliceridici ajung aici prin pasaj de-a lungul matricei citoplasmatice, printr-un mecanism necunoscut (38). Acest transport al acizilor graşi prin citoplasmă, înaintea trigliceridosintezei din reticulul endoplasmatic, a fost demonstrat în studii autoradiografice (48). Celelalte fracţii lipidice au un comportament asemănător. Se pare că o parte din asamblarea lor are loc în sistemele reticulului endoplasmatic. După unii autori, complexul Golgi ar avea, de asemenea, rol în formarea particulelor lipidice (49).

d) *Formarea învelişului lipoproteic al chilomicronilor*

Învelişul chilomicronilor din limfă este format din proteine şi lipide polare, care se concentrează spontan la suprafaţă (38). S-au acumulat o serie de dovezi care converg spre ideea originii intracelulare a învelişului proteolipidic chilomicronic şi modificarea lui extracelulară prin schimburi lipidice şi absorbţia proteică (38).

Rolul epiteliului intestinal în sinteza betalipoproteinelor care participă la formarea chilomicronilor este dovedit de o serie de experienţe *in vitro* (50, 51) şi prin absenţa chilomicronilor în abetalipoproteinemie (52, 53). Betalipoproteinele au funcţia de transportori ai particulelor lipidice din epiteliu în limfă (8), rolul lor în chilomicrono-formare fiind esenţial (38).

În timpul absorbţiei lipidelor, atît la om, cît şi la cîine, s-a demonstrat un schimb între componentele lipidice şi proteice de la nivelul chilomicronilor şi HDL_2 (33, 54, 56). Astfel, fosfolipidele sînt transferate de la chilomicroni pe HDL_2, în timp ce în sens invers, are loc trecerea „proteinei activatoare". Aceasta fixîndu-se pe chilomicroni îi sensibilizează la acţiunea LPL atribuindu-i-se rolul de apoproteină activatoare specifică a acestui sistem enzimatic.

TRANSPORTUL EXTRACELULAR

Chilomicronii pătrund în spaţiul interstiţial şi, de aici, în capilarele limfatice, probabil prin îndepărtarea celulelor endoteliale oponente (38). Transportul extracelular al chilomicronilor nu este cunoscut în intimitate (38).

Absorbţia lipidică este însoţită de creşterea fluxului limfatic printr-un mecanism încă neelucidat (38).

Absorbţia acizilor graşi cu lanţ mediu care nu s-au esterificat, sau cu lanţ cu un număr de atomi de carbon sub 10, se face pe cale sanguină (portală), ocolind capilarele limfatice, fapt de mare importanţă terapeutică (38, 39, 57).

II.2.5. SECVENŢA „OUTPUT" ÎN METABOLISMUL CHILOMICRONILOR

„Ieşirea" chilomicronilor din sistemul metabolic este un proces incomplet cunoscut. Se ştie că o parte din particulele primare în momentul pătrunderii lor în plasmă se transformă în particule secundare. Ambele sînt supuse unui mecanism complet de catabolizare care constă din :

— hidroliza treptată a gliceridelor (la nivelul endoteliilor vasculare, ubicuitar, dar predominant în ţesutul adipos şi muscular) ; în urma căreia chilomicronii devin din ce în ce mai mici şi mai „săraci" în gliceride („rest chilomicronic") (58, 59) ;

— „restul chilomicronic" este catalizat la nivelul ficatului, proces care constă, pe de o parte, din prelucrarea componentei proteice, iar pe de altă parte, din transformarea colesterolului esterificat în colesterol liber, printr-un mecanism legat de membrana plasmatică hepatocitară (58).

80% din trigliceridele chilomicronilor sînt metabolizate extrahepatic şi 20% intrahepatic, în timp ce metabolismul colesterolului chilomicronic are loc numai în ficat (58).

Hidroliza trigliceridelor chilomicronice reprezintă procesul cel mai important în cadrul secvenţei „output". Pentru realizarea acestuia, chilomicronii şi particulele secundare pătrund endoteliul celular venind în contact cu sistemul enzimatic lipolitic de la acest nivel. AGL rezultat din hidroliză urmează căile metabolice cunoscute (fig. II.12 şi II.13).

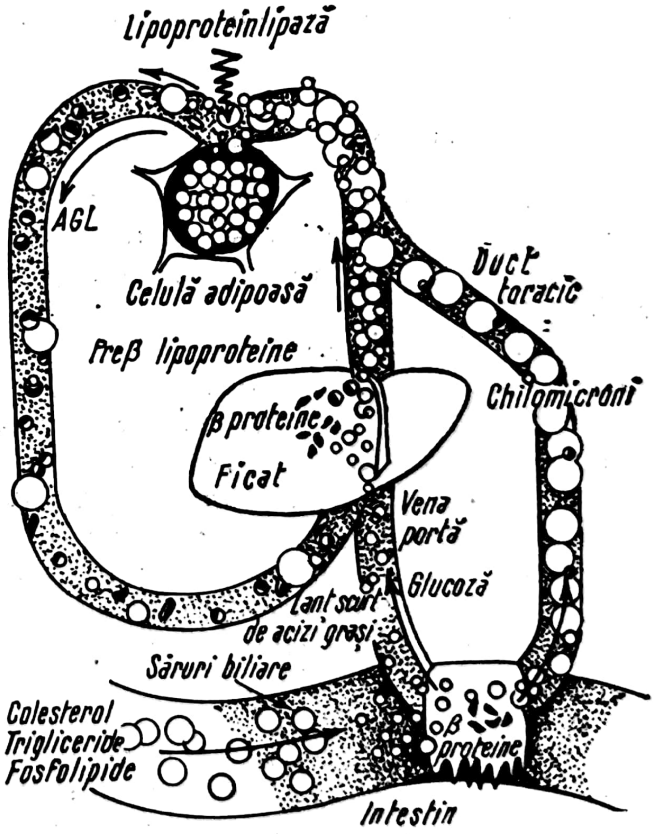


Fig. II.12. — Metabolismul chilomicronilor şi VLDL — după Levy, 196.

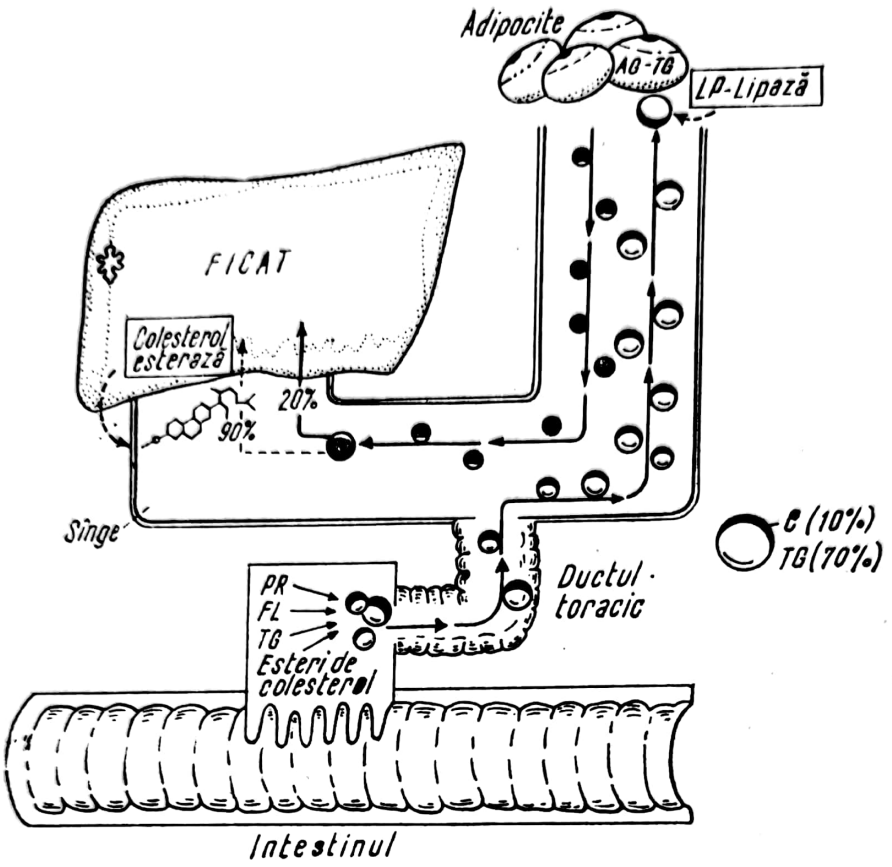


Fig. II.13. — Metabolismul chilomicronilor — după Stein Y şi Stein O., 58.

A. CHILOMICRONII ŞI ENDOTELIUL VASCULAR

Îndepărtarea chilomicronilor din circulaţie se produce după scurta lor „staţionare" în plasmă (59, 60). Deşi procesul este obişnuit, există particularităţi în funcţie de ţesut, datorită diferenţelor în structura capilarelor.

În ficat, particularităţile sînt date de lipsa membranei bazelor capilare, de caracterul fenestrat al endoteliului capilar şi de prezenţa celulelor Kupffer. În felul acesta chilomicronii vin direct în contact cu spaţiul subendotelial Disse (59).

În ţesuturile extrahepatice, aceste particularităţi nu se întîlnesc, chilomicronii venind în contact numai cu celulele endoteliale (59).

Relaţia „chilomicroni-celule" poate fi rezumată astfel :

— celulele Kupffer şi alte celule cu potenţial macrofag captează chilomicronii prin fagocitoză (59, 61). Intracelular are loc degradarea gliceridelor chilomicronice prin acţiunea hidrolazelor acide lizozomiale (59) ;

— celulele endoteliale captează chilomicronii prin pinocitoză, după prealabila dispersie a particulelor (59). Acesta este mecanismul major de pasaj intracelular al chilomicronilor. Chiar şi la nivelul ficatului, captarea de către celulele macrofage este un mecanism secundar (61) (fig. II.13).

B. HIDROLIZA GLICERIDELOR CHILOMICRONICE

Cu excepţia ficatului, hidroliza gliceridelor alimentare are loc obişnuit în celulele endoteliale, în special ale ţesutului adipos şi muscular (59). Lipoproteinlipaza catalizează această reacţie deosebit de importantă. AGL rezultaţi din hidroliză urmează căile metabolice cunoscute : pătrund în celulă, unde participă la esterificările intracelulare (gliceride, fosfolipide, colesterol) ; sînt oxidaţi intracelular (59) ; se reîntorc în plasmă, unde circulă legaţi de albumină. Cea mai mare parte de AGL sînt captaţi de către ţesutul muscular striat (59) sau glanda mamară în perioada de lactaţie (62). Cantităţi reduse pătrund în plămîni, splină, rinichi, miocard sau alte ţesuturi, cu excepţia probabilă a creierului (59).

Ficatul nu metabolizează în mod fiziologic trigliceridele din chilomicroni sau VLDL, decît într-o cantitate foarte redusă (afirmaţia aceasta a fost extrem de controversată, dar studiile lui Moyes şi Felts (74—76), prin utilizarea chilomicronilor marcaţi (chilomicroni C^{14}) în ficatul perfuzat, au elucidat se pare această problemă.

La om, în condiţiile normale, în sînge, nu s-a evidenţiat activitate de tip lipoproteinlipazic decît după injectarea de heparină.

C. LIPOPROTEINLIPAZA

În anul 1943, Hahn reuşeşte să clarifice serul lipemic al cîinilor cu hiperlipemie postalimentară prin injectarea de heparină (citat de 59). În anul 1955, Korn (63) denumeşte acest factor de clarificare al plasmei, lipoproteinlipază, demonstrînd că el hidrolizează legăturile esterice ale gliceridelor din chilomicroni, VLDL, alte lipoproteine sau emulsii lipidice artificiale (64). Ultimii 30 de ani au fost deosebit de productivi în cercetări asupra acestei enzime care a fost diferit denumită : factor activat de heparină, lipază a factorului de clarifiere, factor de clarifiere postheparinică, lipoproteinlipaza (65). După anul 1963, au apărut excelente lucrări de sinteză asupra acestei probleme, convenindu-se asupra rolului deosebit de important pe care îl are în metabolizarea chilomicronilor şi VLDL (23—25, 59, 65—73). În ultimii 5 ani s-a reuşit diferenţierea lipoproteinlipazelor (78—83), purificarea lor (84—87), evidenţierea prin metode histochimice (88), cît şi precizarea apoproteinelor activatoare şi inhibitoare (33, 54—56, 72, 87, 88—91).

DIFERENŢIEREA LIPOPROTEINLIPAZELOR

Conceptul actual asupra lipoproteinlipazelor conchide că este vorba de un sistem enzimatic tisular localizat obişnuit în endoteliile capilare, dar preferenţial din punct de vedere cantitativ în ţesutul adipos, musculatura striată, plămîn (92, 93). Activitatea lipolitică la nivelul plămînului — semnalată de autorii români Benetato şi Niţescu, încă din anul 1927 — este explicată acum prin prisma acestor fapte (65).

După injectarea unei cantităţi reduse de heparină (mai puţin de 10 u/kilocorp), activitatea lipolitică este semnalată imediat şi tranzitor

în plasmă (59). În plasmă, după administrarea de heparină, s-a reuşit evidenţierea mai multor activităţi esterolitice, atît gliceridlipazice, cît şi fosfolipazice. Cercetări de foarte mare finețe (80—83) au reuşit diferenţierea a două tipuri de gliceridlipaze în plasma postheparinică ; gliceridlipaza de origine extrahepatică şi lipaza hepatică. Ambele sînt constituite de fapt din cel puţin 2 enzime — trigliceridlipaza şi monogliceridlipaza.

LIPOPROTEINLIPAZA TISULARĂ

La om, cele mai multe informaţii referitoare la LPL tisulară le deţinem asupra celei localizate în ţesutul adipos. Este vorba atît de LPL din endoteliul capilarelor, cît şi de LPL din adipocit (23), a căror activitate se determină prin metoda eluţiei în heparină (64, 68, 94) sau prin metoda extracţiei de ţesut adipos în acetonă. Substratul vizat este, fie emulsia de ulei de nucă de cocos (EDIOL), fie emulsia de ulei de soia (intralipid). Ţesutul adipos se prelevează prin puncţie-biopsie (68). S-au efectuat numeroase studii referitoare la activitatea LPL în ţesutul adipos uman ale căror date le putem sistematiza astfel : ţesutul adipos este, în mod neîndoielnic, din punct de vedere cantitativ, cea mai importantă sursă de LPL (68), deşi unii autori contestă aceasta (96). În tabelul II.6

Tabelul II.6

Variaţia activităţii lipoproteinlipazice în ţesutul adipos uman (puncţie-biopsie de la subiecţi aparent sănătoşi). Metoda de determinare s-a bazat pe eluţia ţesutului adipos în heparină şi utilizarea ediolului ca substrat (după Persson — 68)

	Bărbaţi	Femei
Activitatea LPL în ţesutul adipos [μEq ACL/g (45)]	4,47±2,89	5,32±2,55

se redau valorile activităţii LPL în ţesutul adipos uman prelevat de la subiecţi sănătoşi (după Persson, 68). Se remarcă creşterea valorilor la femei, comparativ cu bărbaţii (factorul genetic explicînd acest fenomen). Un raport invers proporţional se observă între activitatea LPL din ţesutul adipos şi greutatea subiectului : creşterea ponderei se însoţeşte de scăderea activităţii enzimei, dacă valorile sînt exprimate în funcţie de greutatea ţesutului adipos uscat (68). Raportarea activităţii LPL, la numărul adipocitelor, nu confirmă acest lucru (68).

La bărbaţii adulţi, activitatea enzimei scade corelativ cu creşterea vîrstei, fenomen explicat prin creşterea mai accentuată a volumului adipocitar (68). Totuşi, la un indice ponderal identic, enzima nu se

modifică în funcţie de vîrstă (68). O variaţie importantă a activităţii LPL în ţesutul adipos este semnalată în funcţie de aportul alimentar : postalimentar activitatea enzimei creşte (95), iar în perioada de foame scade (fig. II.14). Pentru explicarea acestui fenomen trebuie aduşi în discuţie factorii neuroendocrini (catecolamine, insulină), sau metabolici intraadipocitari, deoarece s-a demonstrat că activitatea LPL în ţesutul adipos se modifică în raport invers proporţional cu lipoliza intraadipocitară (98, 99). Se sugerează că activitatea LPL este reglată, probabil, de concentraţia intracelulară de AGL (98).

Activitatea LPL în ţesutul adipos este inhibată de soluţia de ClNa în concentraţie de 0,5 M, sau de ionii fosfaţi (68). Scăderea activităţii enzimei la şobolani este obţinută de Shafir şi Bayle (100), prin infuzie de trigliceride. Deşi este greu de presupus ca un astfel de mecanism să fie operant la om în condiţii normale, fenomenul trebuie interpretat prin prisma cercetărilor lui Persson şi colab. (101), care evidenţiază corelaţia inversă între concentraţia trigliceridelor serice şi activitatea LPL în ţesutul adipos la normolipemici.

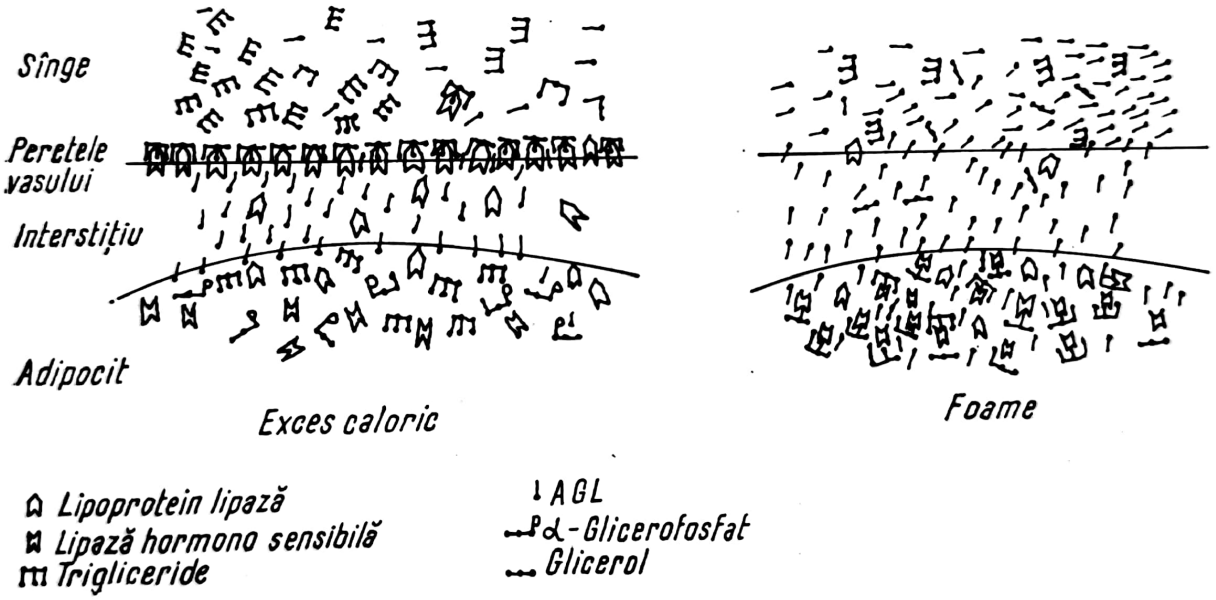


Fig. II.14. — Activitatea lipoproteinlipazică la nivelul ţesutului adipos în eventualitatea unui exces caloric sau a foamei — după Persson, 67.

Histochimic s-a demonstrat că activitatea LPL este localizată în celulele endoteliale ale capilarelor din stroma ţesutului conjunctiv (88). Diculescu şi colab. (102) evidenţiază activitatea LPL la suprafaţa adipocitului, spre deosebire de sistemul lipolitic care este situat în profunzimea celulei (102).

Recent, se reuşeşte purificarea LPL din ţesutul adipos de porc (87), utilizînd pulberea de acetonă pentru extracţie şi cromatografie în coloană de sepharoză 4B pentru purificarea propriu-zisă. Activitatea en-

zimei astfel obținută este dependentă de prezența serului sau a apo-LPL-glu (din VLDL), care sînt considerați activatorii LPL, în timp ce apo-LPL-ser și apo-LPL-ala, sînt inhibitorii ei (87).

La animale, activitatea LPL a fost depistată și în organele și țesuturile amintite anterior. Controverse sînt în legătură cu activitatea LPL din ficat. Deși diferențele arterio-venoase ar indica secreția hepatică a enzimei, activitatea ei la acest nivel este foarte redusă (59, 103—105). Prin studiile lor, Moyes și Felts (106) ajung la concluzia că în ficat, LPL se găsește sub formă inactivă. Activarea ei se face sub acțiunea heparinei. Într-adevăr, recent (1973), Assmann și colab. (81) evidențiază în fracțiile subcelulare ale hepatocitelor prezența trigliceridlipazei, monogliceridlipazei și fosfolipazei. Activitatea acestei enzime este crescută în membrana plasmatică hepatocitară, de unde sînt eliberate de heparină. Faptul că LPL se găsește în ficat sub formă inactivă, este corelat cu importanta funcție a acestui organ de a sintetiza și secreta lipoproteine. Interferența acestor funcții împiedică activitatea lipoproteinlipazei (106).

LIPOLIZA PLASMATICĂ POSTHEPARINICĂ

În plasma postheparinică, trigliceridlipaza extrahepatică este enzima dotată cu proprietăți similare lipoproteinlipazei descrise de Korn în anul 1955. Celelalte enzime lipolitice, și anume monoglicerid lipaza extrahepatică, trigliceridlipaza hepatică sau monoglicerid lipaza hepatică au un rol minor în catabolismul trigliceridelor chilomicronice sau TG-VLDL (59, 80, 83).

Separarea celor două trigliceridlipaze plasmatice postheparinice (hepatică și extrahepatică) (80, 81) a fost posibilă prin utilizarea cromatografiei în coloană de sepharoză și heparină, urmată de purificarea lor prin sepharoză-CoA și focalizarea izoelectrică *p*H — 4,1). În tabelul II.7 sînt redate principalele caracteristici fizico-chimice ale celor două enzime, după datele furnizate de lucrările lui Krauss și colab. (80), Enholm (81, 82), Olivecrona și Engelrudt (73).

Trigliceridlipaza extrahepatică sau lipoproteinlipaza propriu-zisă desface legăturile esterice din pozițiile 1—3 ale trigliceridelor din chilomicroni și VLDL. Ea are o activitate plasmatică postheparinică de $4,3 \pm 1,9$ u (80), fiind inhibată de soluția ClNa 0,5—1 M sau protamină. Scăderea activității ei se remarcă și după alimentația hipolipidică.

Trigliceridlipaza hepatică acționează din punct de vedere calitativ în același mod asupra trigliceridelor, fiind însă mai puțin activă decît trigliceridlipaza extrahepatică, în special în condiții fiziologice. Nu este inhibată de soluția cloruro-sodică, protamină sau alimentația hipolipidică.

Deoarece separarea celor 2-tri gliceridlipaze este de dată recentă, referințele din literatură și din textul nostru se fac în continuare la activitatea lipolitică postheparinică globală, de origine hepatică și extrahepatică, trigliceridică și monogliceridică. Aceasta cu atît mai mult cu cît LPL purificată își păstrează și activitatea monogliceridlipazică (73).

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul II.7

Caracteristicile fizico-chimice ale trigliceridlipazei extrahepatice (lipoproteinlipaza propriu-zisă) şi trigliceridlipazei hepatice (Datele provin din lucrările lui Krauss şi colab. — 80, Enholm şi colab. — 81, 82)

* = 1 u = 1μ ml AGL/ml/h (80);
** = greutatea moleculară a lipoproteinlipazei propriu-zise izolată şi purificată din laptele de vacă (Olivecrona şi Egelrud — 74)

Parametrii debitori	Trigliceril lipaza extrahepatică — Lipoproteinlipaza (E.C. 3.1.1.3)	Trigliceridlipaza hepatică
— Diferenţierea prin cromatografie în coloană cu sefoxoză şi legarină	Vîrful II	Vîrful I
— Activitatea la subiecţii normali	4,3±1,9 u *	12,4±4,5 u *
— Greutatea moleculară	62 000 **	64 000
— Acţiunea inhibitorie a sal ClNa : 0,5—1 M	prezentă	absentă
protaminei	prezentă	absentă
— Efectul hepatectomiei	nu influenţează activitatea enzimei	scade mult activitatea enzimei
— Efectul alimentaţiei hipolipidice	reduce activitatea enzimei	nu influenţează activitatea enzimei

* 1 u = 1 u mol AGL/ml/h (80);
** Greutatea moleculară a lipoproteinlipazei propriu-zise izolată şi purificată din laptele de vacă (Olivecrona şi Egelrud — 74).

MECANISMUL DE ACŢIUNE AL LIPOPROTEINLIPAZEI

80% din trigliceridele chilomicronice sînt hidrolizate de LPL de origine extrahepatică, în faza iniţială a procesului de catabolism chilomicronic (58, 109).

Se presupune că LPL este sintetizată în adipocit, de unde este transportată „în" sau „la suprafaţa" endoteliului capilar unde îşi exercită acţiunea asupra chilomicronilor sau VLDL. În figura II.15 este redat

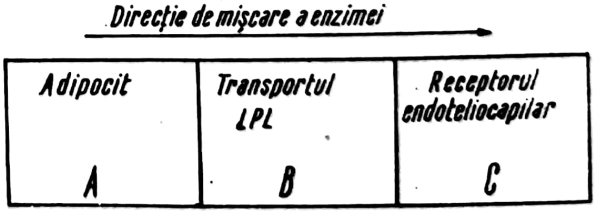


Fig. II.15. — Mecanismul de acţiune al lipoproteinlipazei din ţesutul adipos — după Robinson şi Wing, 70.

schematic mecanismul de acţiune al enzimei, conform concepţiei lui Robinson (109), pe care îl vom detalia corelativ şi cu alte cercetări. Secvenţele sintezei intraadipocitare a enzimei nu sînt cunoscute, la fel ca şi structura ei. Există totuşi dovezi asupra controlului sintezei ei prin factori genetici (68, 110) şi neurohormonali (70). Transportul LPL spre locul de acţiune este, de asemenea, insuficient cunoscut (70). Cercetările

lui Robinson şi colab. (110), efectuate pe LPL din ţesutul adipos de la şobolani înfometaţi sau postalimentar, supuşi sau nu tratamentului cu puromicină, aduc dovezi indirecte asupra existenţei a două forme de enzimă în ţesutul adipos. Este vorba de precursor şi de enzima propriu-zisă, ultima fiind mai activă decît prima. Creşterea activităţii precursorului, peste un anumit nivel, determină transportul enzimei spre locul de acţiune (70). Aceste două secvenţe — sinteza şi transportul LPL — trebuie legate de heparina tisulară endogenă, care poate fi o componentă a enzimei (69, 70), sau numai un activator al ei la fel ca şi heparina exogenă sau simil-heparinici („heparin-like"). Se cunosc şi alţi compuşi activatori ai LPL cum sînt substanţele cu grupări polare puternic negative : sulfatul de dextran, acidul alginic sulfat, celuloza sulfatată, amilopeptinele sulfatate, acidul hialuronic sulfatat (65, 111, 112). Cercetările s-au îndreptat în special asupra relaţiei LPL heparină.

S-a demonstrat că afinitatea LPL pentru heparină este o proprietate generală a enzimei (113). Aceste două substanţe pot exista *in vivo* sub forma complexului LPL heparină (73). Afirmaţia este întărită şi de evidenţierea coexistenţei *in vivo* a LPL sub forma complexelor cu substanţe asemănătoare heparinei („heparin like") cum sînt glicozaminglicanii sau heparinul sulfat (114). Evidenţierea capacităţii celulelor endoteliului arterial de a sintetiza şi cataboliza glicozaminglicanii vine în sprijinul celor de mai sus (115). Efectul heparinic asupra LPL a fost interpretat în diferite moduri : ca stimulator (63, 64), ca stabilizator (70), sau ca fixator al enzimei de substrat (116). Se postulează existenţa unui control prin mecanism allosteric al heparinei asupra LPL (117, 118). Cert este faptul că deşi nu sînt argumente pentru interpretarea heparinei ca un cofactor al enzimei (73), prin legătura acestei substanţe la un pH şi concentraţie ionică fiziologică, LPL devine mai puţin sensibilă la inhibiţia cu ClNa sau acţiunea altor inhibitori (119). Se pare că aceste efecte ale heparinei trebuie corelate cu activatorii apoproteici, cu care LPL se interferează la nivelul unor eventuali receptori din endoteliul capilar, a căror existenţă trebuie demonstrată, dar dependenţa activităţii LPL de aceşti activatori apoproteici este o realitate certă (22, 72, 89, 90, 120).

Deşi sînt încă multe contradicţii asupra relaţiei LPL-activatori şi inhibitori apoproteici polipeptidici, cercetări foarte recente (55, 120) converg spre următoarele idei :

Activitatea LPL asupra substratului trigliceridic din chilomicroni şi VLDL este condiţionată de existenţa activatorilor apoproteici dintre care cea mai importantă la om este apo-LP-glu, urmată de apo-LP-ser şi apo-LP-ala. În concentraţie crescută, apo-LP-ala şi apo-LP-ser devin inhibitori ai enzimei şi chiar ai acţiunii activatoare exercitată de apo-LP-glu. Dintre subgrupurile de apo-LP-ala, mai activă s-a dovedit a fi apo-LP-ala$_1$ (R_1-ala). Heparina creşte sensibilitatea LPL izolată din lapte la acţiunea apo-LP-glu. Dezinhibiţia acţiunii apo-LP-ala este demonstrată a fi produsă de monogliceride (72), împreună cu care, probabil, apo-LP-ala acţionează corelat în sensul unei funcţionalităţi normale a sistemului LPL.

Cele trei apoproteine activatoare ale LPL (apoproteinele C) reprezintă constituienţi polipeptidici majori ai VLDL şi chilomicronilor (72), adică tocmai ai substratului enzimei, întărind astfel afirmaţiile de mai sus. Ele sînt transferate de aceste lipoproteine bogate în trigliceride de pe HDL_2, în timpul absorbţiei lipidice (55), concomitent cu o mişcare în sens invers a fosfolipidelor chilomicronice pe HDL_2. Sursa lor primară este însă ficatul (55), concluzie la care se ajunge prin demonstrarea absenţei lor în VLDL sintetizate în intestin (121). După hidroliza trigliceridelor, apoproteinele activatoare se reîntorc pe HDL_2, ceea ce a permis elaborarea conceptului asupra „reciclării apoproteinelor C", în scopul „economisirii" lor (22).

INACTIVAREA ŞI INHIBIŢIA LIPOPROTEINLIPAZEI

Clasic se cunoaşte că, inactivarea LPL are loc în ficat sub acţiunea heparinazei, care catabolizează grupul prostetic heparinic al enzimei (106, 122, 123). Acesta este însă numai un aspect al problemei, deoarece s-a demonstrat efectul inhibitor exercitat asupra LPL de către apo-LP-ala, apo-LP-ser, apo-LP-thr şi apo-LP-glu (90). Efectul depinde de concentraţia apolipoproteinelor, fiind invers proporţional cu concentraţia trigliceridelor în substrat. Se pare că această acţiune inhibitoare este specifică, deoarece nu a fost evidenţiată la proteinele nonlipoproteice (90).

REGLAREA ACTIVITĂŢII LIPOPROTEINLIPAZEI

Reglarea activităţii LPL este deosebit de complexă. Factorii genetici, neuro-hormonali îşi exercită acţiunea la nivelul sintezei, transportului sau receptorului endotelial.

Un fapt trebuie însă menţionat acum, şi anume „dependenţa acţiunii enzimei de mărimea particulelor asupra cărora acţionează" (124); activitatea lipolitică este mai intensă asupra particulelor mai mari, ea scăzînd concomitent cu scăderea mărimii particulelor.

II.3. LIPOPROTEINE CU DENSITATE FOARTE JOASĂ-VLDL

II.3.1. INTRODUCERE

Lipoproteinele cu densitate foarte joasă (VLDL) sînt principalii vehicoli ai trigliceridelor endogene. În tabelul II.1.1 sînt redate caracteristicile fizico-chimice esenţiale ale VLDL: densitate mai mică de 1,006 (0,94—1,006); Sf între 20—400; greutate moleculară de (5—10) $\times 10^6$ şi diametrul sferei cuprins între 250—750 Å. Nomenclatura electroforetică este de prebetalipoproteine. Pentru a se evidenţia relaţia cu LDL se mai numesc LDL_2.

Lectura acestor parametrii este suficientă pentru a ne convinge de heterogenitatea VLDL, determinată de variaţia dimensională, a densi-

tăţii şi compoziţiei lor, în special proteice. În figura II.16 este redată compoziţia unei macromolecule „tip" de VLDL (după Fredrickson, 22) : 89% lipide, 1% hidraţi de carbon şi 10% proteine ; raportul lipo/proteic = 92,8.

II.3.2. COMPOZIŢIA LIPIDICĂ A VLDL

Dintre lipide, predomină cantitativ trigliceridele (59%), urmează apoi fosfolipidele şi colesterolul total cu aceiaşi proporţie de 15% (colesterol esterificat — 5% ; colesterol liber — 10%). Deşi datele variază după autori, toţi converg însă spre ideea creşterii gliceridelor şi a colesterolului esterificat la bărbaţi şi a fosfolipidelor la femei (1).

Dintre fosfolipide predomină lecitina şi sfingomielina, în timp ce izolecitina se află în cantitate redusă (tabelul II.8).

Tabelul II.8

Conţinutul în fosfolipide al VLDL la om ; datele lui Nelson se referă la ser în condiţii postabsorbtive, iar datele lui Polonowski se referă la plasmă (simplificat după Skipski — 1)

Fosfolipidele lui VLDL		După Nelson (citat de 1)	După Polonowski (citat de 1—)
Fosfolipidele totale (% din lipide)		18,9	21
%	— Lecitină	74	65—70
	— Lizolecitină		2—15
din totalul FL	— Sfingomielină	18,3	15—20
	— Fosfatidiletandamină	} 7,7	} 2—10
	— Fosfatidil serină		

Acizii graşi liberi sînt, de asemenea, în cantitate foarte redusă (1—3,4% din totalul lipidelor). AG din compoziţia diferitelor lipide din VLDL este redată în tabelul II.9. Se remarcă concentraţia crescută a acidului stearic în gliceride, a acidului linoleic în esterii de colesterol şi a acidului palmitic în fosfolipide (Goodman şi Shiratori, citat de 1). Compoziţia variază în funcţie de alimentaţie sau tipul de grăsimi ingerate (1).

Tabelul II.9

Acizii graşi din lipidele componente ale VLDL (WT%) ; tabel alcătuit după datele lui Goodman şi Shiratori (citat de 1) în care VLDL au densitate mai mică decît 1,019 g/ml

Acizi graşi	VLDL din plasmă „à jeune"		
	Gliceride	Colesterol esterificat	Fosfolipide
<16 : 0	1	—	—
16 : 0	26,9	11,5	33,8
16 : 1	3,3	1,8	0,5
18 : 0	2,9	1,4	14,7
18 : 1	45,4	25,6	12,2
18 : 2	15,7	51,8	20,3
18 : 2—20 : 4	1,5	0,8	4,1
20 : 3	2,5	6,1	13,6

Scanned with OKEN Scanner

II.3.3. COMPOZIȚIA PROTEICĂ A VLDL

În figura II.16 sînt redate proporțiile diferitelor apo-LP care intră în compoziția VLDL „ideale" ; apo-LDL 40% ; apo-LP-ala (R-ala) 25% ; apo-LP-glu (R-glu) 10% ; apo-LP-ser (R-ser) 10%. „Proteinele C" (sumarea apo-LP-ser+glu+ala) depășesc cantitatea de apo-LDL.

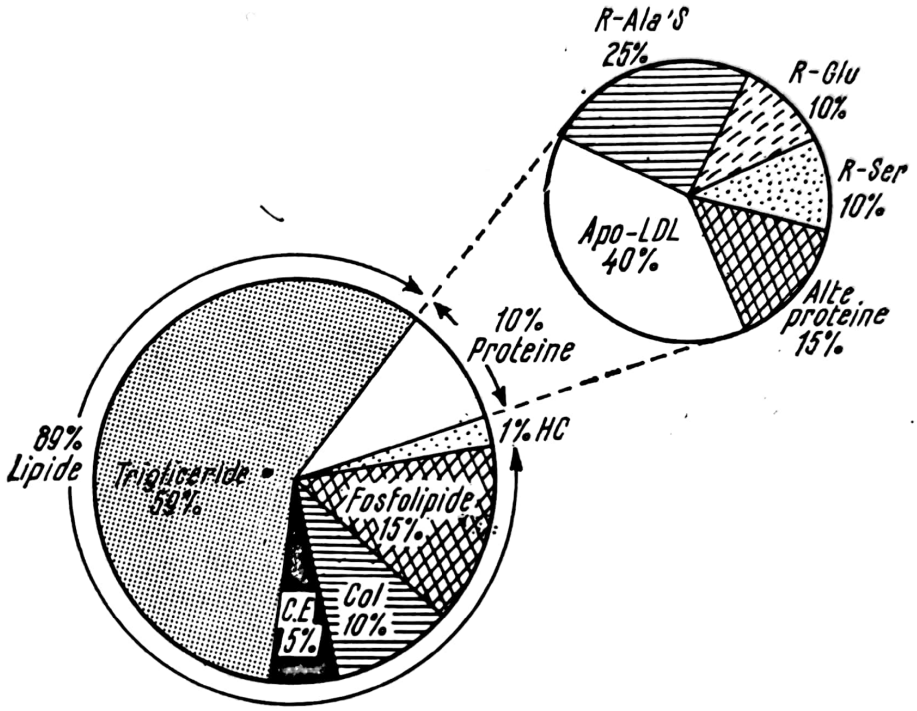


Fig. II.16. — Compoziția unei molecule „tip" de VLDL — după Fredrickson, 22.

Compoziția în aminoacizi a celor trei apoproteine (ser+glu+ala) este redată în tabelul II.10 după Shore și Shore (6). Se remarcă concentrația crescută a acidului glutamic în toate cele trei polipeptide, alături de o creștere moderată a lisinei, serinei, leucinei, în apo-LP-ser ; a treoninei, serinei și leucinei în apo-LP-glu și a serinei, alaninei și acidului aspartic în apo-LP-ala (6).

Brewer și colab. (225) au reușit să descifreze secvențele celor 79 de aminoacizi în apo-LP-ala astfel (se păstrează inițialele aminoacizilor din limba engleză): Ser-Glu-Ala Glu-Asp-Ala-Ser-Leu-Leu-Ser-Phe-Met-Gln-Gly-Tyr-Met-Lys-His-Ala-Thr-Lys-Thr-Ala-Lys-Asp-Ala-Leu-Ser-Ser-Val-Gln-Ser-Gln-Gln-Val-Ala-Gln-Gln-Arg-Gly-Trp-Val-Thr-Asp-Gly-Phe-Ser-Ser-Leu-Lys-Asp-Tyr-Trp-Ser-Thr-Val-Lys-Asp-Lys-Phe-Ser-Glu-Phe-Trp-Asp-Leu-Asp-Pro-Glu-Val-Arg-Pro-Thr-Ser-Ala-Val-Ala-Ala.

La aminoacidul treonină din poziția 74 (subliniată) se atașează glicozidul (glucoză/galactozamină/ acid sialic — 1/1/1 sau (2). În felul acesta apo-LP-ala este una din cele trei apoproteine care pot fi denumite glicoproteine (celelalte fiind apo-LDL și apo-LP-Glu I) (22).

Tabelul II.10

Compoziția în aminoacizi a „proteinelor C" din VLDL umane (simplificat după V. G. Shore și V. Shore – 6)

Denumirea aminoacizilor	Concentrația AA (mol/10² mol AA)		
	Apo LP ser	Apo LP-Glu	Apo LP-Ala
Lisină	153	68	76
Histidină	0	4	15
Arginină	53	18	29
Acid aspartic	90	68	88
Treonină	45	102	65
Serină	126	118	139
Acid glutamic	159	180	130
Prolină	12	44	27
Glicină	32	36	40
Alanină	54	85	123
Valină	35	54	73
Cistină	0	0	0
Metionină	15	23	24
Izoleucină	48	12	0
Leucină	104	94	65
Tirosină	0	48	25
Fenilalanină	48	25	47
Triptofan	24	23	34

Date recente (126, 127) conchid că în VLDL sînt cel puțin 10 polipeptide, toate avînd o greutate moleculară sumată mai mică de 10 000 (128). Fără îndoială că polimorfismul polipeptidic conferă marea eterogenitate a VLDL. Pe de altă parte, se presupune că eterogenitatea polipeptidică a VLDL este legată de structura și funcționalitatea acestei lipoproteine. Nu se poate preciza însă, pînă în prezent, semnificația eterogenității VLDL. Shore și Shore (127) sugerează că aceasta s-ar datora unei schimbări dinamice a compoziției proteinelor VLDL, reflectînd diferențe în homeostazia metabolismului lipidic.

Foarte recent, prin utilizarea tetrametil ureei (ca delipidizant) și a electroforezei polipeptidelor lipoproteice în gel de policrilamidă, se reușește izolarea și cuantificarea a 7 apoproteine în molecula VLDL umane (208). Acestea sînt: R-SER (5,3%), R-GLU (10,6%), R_2-ALA (28,3%), R_3-ALA (26,9%), R_4-ALA (8%), apoproteina bogată în arginină (20,6%) și apo B (36,9%) (cifrele reprezintă concentrația apoproteinelor, raportată la totalul proteinelor din VLDL). Această compoziție variază cu mărimea moleculei de VLDL. Astfel, dacă molecula VLDL se micșorează, concentrația apoB crește în timp ce toate celelalte apoproteine scad în concentrație. La dimensiuni moleculare similare, concentrația apoproteinelor din VLDL este aproximativ egală la subiecți normolipidemici și hiperlipidemici.

II.3.4. SECVENȚA „INPUT" ÎN METABOLISMUL VLDL

Sistematizarea metabolismului VLDL în cadrul sistemului „input-output" este redată în figura II.17. Secvența „input" este formată din

sintezele VLDL predominant în ficat şi în cantitate redusă în intestinul subţire (10% din VLDL serice au această origine). Recent, s-a demonstrat sinteza acestor lipoproteine şi în pereţii arterelor (129). Nu se ştie încă dacă VLDL sintetizate la acest nivel contribuie la homeostazia lor

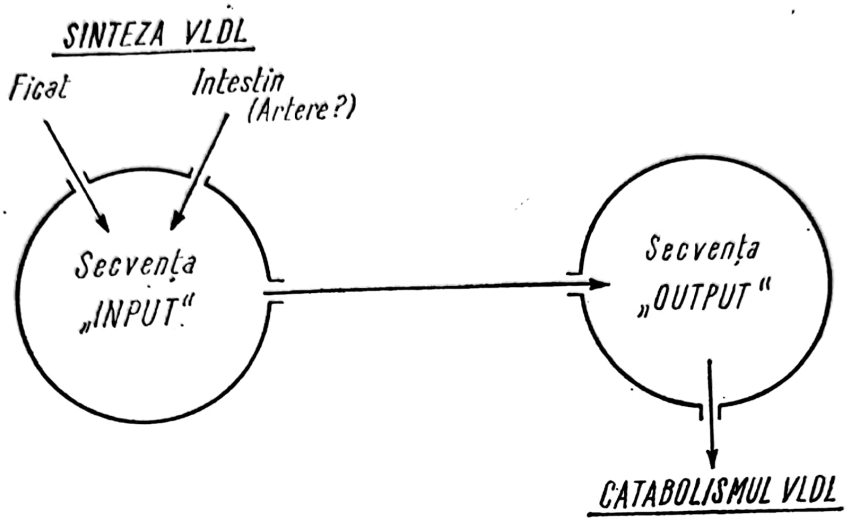


Fig. II.17. — Sistematizarea metabolismului VLDL conform sistemului „input-output".

plasmatică sau dacă rămîn la locul de producere. Secvenţa „output" este alcătuită din catabolizarea VLDL (atît a componentei lipidice, cît şi a celei proteice).

Multe detalii referitoare la sinteza şi catabolismul VLDL sînt necunoscute ; unele sînt numai ipoteze, iar cele mai multe concluzii se bazează pe rezultatele experimentelor pe animale (130). Această situaţie este datorată pe de o parte cunoaşterii insuficiente a sintezei proteice la om, iar pe de altă parte, datorită complexităţii structurale a lipoproteinelor care induce şi un catabolism variat. Aspectele legate de metodologia de cercetare sînt, de asemenea, dificile, ele reprezentînd adeseori piedici mai ales în rezolvarea aspectelor reglatorii ale sintezei LP. Cunoştinţele acumulate pînă în prezent se datoresc utilizării unor metode variate de investigare : precipitarea LP marcate cu polizaharide sulfatate, ultracentrifugarea preparativă (130), imunoprecipitarea (133), determinarea cantitativă a sintezei LP prin metoda radioimunologică (131), sonicarea (132) sau tratarea ribozomilor hepatici cu clorură de litiu (133). Esenţa acestui capitol va fi furnizată de datele cunoscute asupra sintezei VLDL în ficat, în condiţiile expuse anterior.

A. ETAPELE SINTEZEI HEPATICE A VLDL

Etapele biosintezei hepatice a VLDL presupune sinteza componentelor apoproteice, lipidice şi glucidice apoi cuplarea lor, avînd ca re-

zultat formarea VLDL şi secreţia acestora în sînge (130). În figura II.18 şi II.19 sînt redate două încercări de reprezentare a acestor etape, după Trams şi Brown (134) şi Y. Stein şi O. Stein (58).

APORTUL ŞI SINTEZA COMPONENTEI LIPIDICE

Sinteza componentei lipidice se face din precursorii în secvenţele descrise în capitolele respective. Reamintim că biosinteza hepatică de colesterol are loc în microsomi fini (37, 38, ref. cap. I). Sinteza fosfoli-

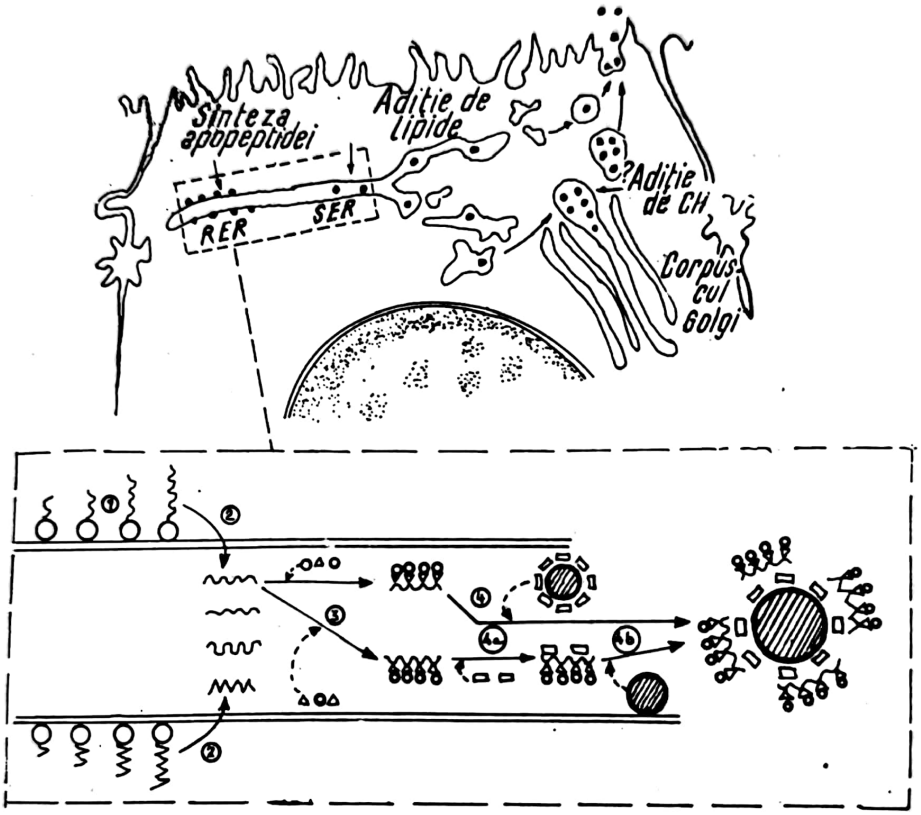


Fig. II. 18. — Sinteza intraadipocitară a VLDL ; CH — hidraţi de carbon RER : reticul endoplasmic rugos ; SER reticul fin :
1 = formarea apopeptidelor şi pătrunderea lor (2) în lumenul tubular al reticulului endoplamatic ; 3 = adiţia hidraţilor de carbon şi formarea apoglicopeptidelor, cuplarea cu lipidele într-o singură secvenţă (4) sau mai multe secvenţe (4 a, a b) — după Trams şi Brown, 134.

pidelor are loc în reticulul fin. Biosinteza „de novo" a acizilor graşi este un proces citoplasmatic, iar enzimele gliceridosintezei se găsesc în microsomi. Aportul exogen de precursori sau lipide trebuie, de asemenea, menţionat ; este vorba de colesterolul de provenienţă alimentară, de AGL esenţiali sau neesenţiali care, din tubul digestiv, ajung în ficat direct pe cale portală (lanţ cu număr de atomi de carbon mai mic decît 10), sau pe cale sistemică „via" circulaţie limfatică sub forma chilomicronilor.

Aportul diferitelor căi ale metabolismului lipidic depinde de tipul alimentaţiei şi de starea nutritivă a subiectului. La aceasta se adaugă şi influenţele neuroendocrine (130).

SINTEZA APOPROTEINELOR ŞI CUPLAREA LOR CU LIPIDELE

În diverse experienţe pe animale s-a demonstrat că biosinteza apoproteinelor din VLDL are loc în ribosomii hepatocitari (132, 133). Etapele sintezei şi factorii reglatori nu se cunosc. Ataşarea lanţului glicosidic la apo-LP-ala şi apo-LDL se face probabil, în aparatul Golgi, deoarece s-a demonstrat că triglicozidările au loc la acest nivel (135, 136).

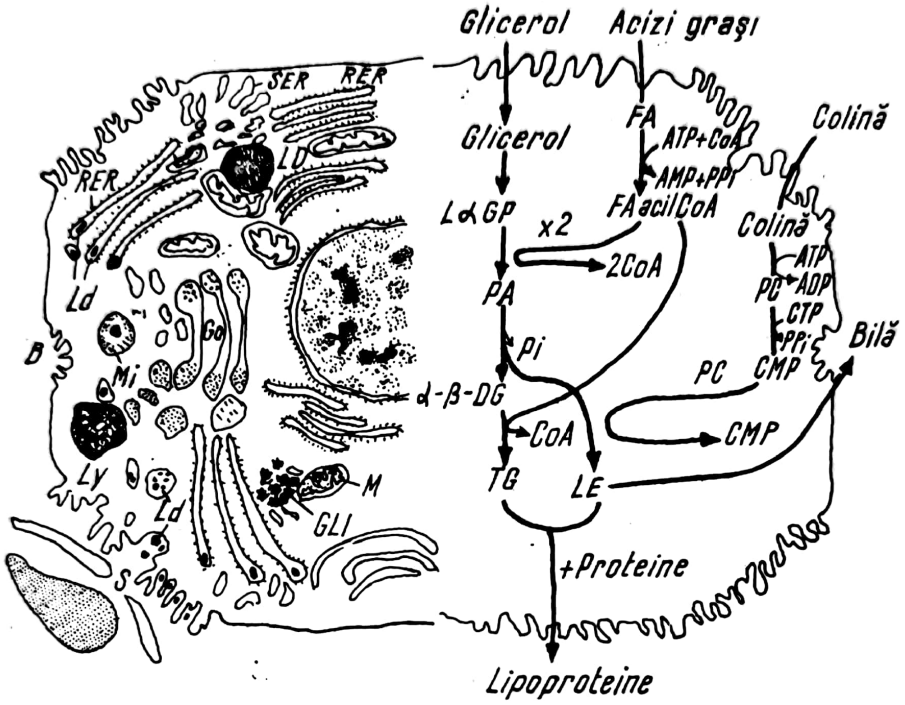


Fig. II.19. — Căile de sinteză intrahepatocitară ale lipoproteinelor — după Stein Y. şi Stein O., 58.

Se presupune, rolul aparatului Golgi în sinteza apoproteinelor din VLDL (53, 137—139), demonstrîndu-se asemănări sau chiar identitate între apo-VLDL plasmatice şi cele din aparatul Golgi. Hamilton (140) evidenţiază, de asemenea, apoproteinele C în aparatul Golgi din ficatul de şobolan. Nu se poate preciza dacă aparatul Golgi reprezintă locul lor de biosinteză.

Jones, Ruderman şi Herrera (141) consideră că, cuplarea lipidelor cu aproproteine este realizată la nivelul aparatului Golgi, după efectuarea transglicozidărilor. Alţi cercetători menţionează că asamblarea lipido-protidică se produce în reticulul endoplasmatic (142, 143). Ipoteza lui Jones şi colab. pare mai plauzibilă în contextul ipotezelor care consideră însă şi aparatul Golgi ca loc al apoproteinosintezei.

Conform concepţiei reprezentate în fig. II.18, cuplarea glicoproteică ar putea avea loc şi în reticulul endoplasmatic, iar asamblarea cu lipidele se produce fie într-o singură etapă (secvenţa 4), fie separat pentru fosfolipide şi colesterol (secvenţa 4 a şi 4 b) (130, 134).

Scanned with OKEN Scanner

SECREŢIA VLDL

Oricare ar fi sediul sintezelor sau al asamblării, înainte de a fi eliminate în sînge, VLDL sînt stocate în aparatul Golgi sub forma unor particule evidenţiabile la microscopul electronic sau prin radioautografie (144). Caracteristicele lor morfologice, ultracentrifugale, chimice şi imunochimice converg spre ideea că aceste particule sînt precursorii VLDL sanguine (53, 137, 139, 140).

Se presupune (137) că particulele VLDL din aparatul Golgi ar avea ca precursori LDL depistaţi tot în aceste organite. LDL ar fi de origine endoplasmică, iar transformarea LDL în VLDL s-ar produce în aparatul Golgi prin adiţionarea de trigliceride.

Transportul VLDL spre polul sinusoidal şi spaţiul Disse se face probabil sub forma unor vezicule transportoare (144), proces dependent de K^+ (145). Electromicroscopic, s-au evidenţiat în hepatocit şi alte forme de transport lipidic, (liposomii) (146), dar cu excepţia unor stări patologice, premergătoare steatezei hepatice, semnificaţia lor nu este cunoscută.

B. REGLAREA INTRACELULARĂ A BIOSINTEZEI VLDL

În influenţarea biosintezei hepatice de VLDL, rolul colesterolului şi al acizilor graşi este important, ei fiind factorii metabolici prin care, de regulă, alimentaţia sau factorii neuroendocrini reglează biosinteza acestor lipoproteine. Rolul proteinelor şi fosfolipidelor în acest proces va fi expus în capitolul V.

Principiul major care operează în reglarea sintezei de VLDL constă în faptul că, cantitatea de VLDL secretată de ficat „in vivo" este determinată de necesităţile trigliceridelor care trebuie transportate de la acest nivel (147).

ROLUL COLESTEROLULUI ÎN BIOSINTEZA VLDL

La biosinteza hepatică a VLDL şi a altor lipoproteine, participă numai colesterolul din *pool*-ul anabolic, conform concepţiei lui Sodhi şi Kudchodkar (148). Este vorba deci de colesterolul alimentar sau de cel sintetizat „de novo" în ficat. Colesterolul rezultat prin catabolismul LP sau colesterolul tisular nu participă la acest proces.

Creşterea colesterolului intrahepatic (creşterea sintezei sau a aportului) nu modifică din punct de vedere cantitativ sinteza lipoproteinelor, dar, aşa cum s-a demonstrat, creşte cantitatea de colesterol secretat pe această cale (149, 150). Cantitatea de colesterol secretat în VLDL creşte cantitativ cu necesarul de trigliceride care necesită transportul din ficat. Fenomenul este evident mai ales în stările hipertrigliceridemiante (151).

Biosinteza hepatică de colesterol este influenţată de colesterolul din chilomicroni, spre deosebire de colesterolul din VLDL care nu afectează acest proces (148, 152).

Scanned with OKEN Scanner

ROLUL ACIZILOR GRAŞI ÎN BIOSINTEZA VLDL

Rolul AG în biosinteza şi secreţia hepatică a VLDL a fost excelent revizuit de către Heimberg şi colab. (147), pe baza propriilor lor lucrări realizate pe ficatul izolat şi perfuzat. Se consideră că dieta afectează concentraţia trigliceridelor serice prin reglarea secreţiei de VLDL, calea AGL. Creşterea AGL în lichidul de perfuzie induce creşterea secreţiei de trigliceride din VLDL, care la rîndul ei induce şi creşterea cantităţii de colesterol şi fosfolipide în aceste lipoproteine. Este încă o dovadă că, dintre lipidele VLDL, trigliceridele în corelaţie cu acizii graşi sînt cele care determină ritmul sintezei şi secreţiei VLDL.

Într-adevăr, s-a demonstrat (141, 153), tot în experiment pe ficat izolat şi perfuzat că, creşterea AGL în lichidul de perfuzat determină creşterea numărului şi mărimii particulelor VLDL din aparatul Golgi. În schimb, puromicina induce scăderea lor, evidenţiind rolul sintezelor apoproteice în biosinteza VLDL (154).

Modificări ale lipidelor VLDL se produc şi în funcţie de proprietăţile fizico-chimice ale acizilor graşi din lichidul de perfuzie. Astfel, trigliceridele sintetizate predominant din acizi graşi saturaţi, necesită în VLDL, pentru asigurarea stabilităţii, o cantitate mai mare de colesterol şi fosfolipide. În cazul acizilor graşi nesaturaţi, se observă scăderea concentraţiei de colesterol şi fosfolipide din VLDL. Fenomenul este deosebit de important deoarece explică parţial efectul hipolipemiant al lipidelor alimentare formate din acizi graşi nesaturaţi sau polinesaturaţi.

Aceste efecte ale AGL asupra sintezei şi secreţiei de VLDL sînt modificate de starea nutritivă şi factorii neuroendocrini (147).

În concluzie, reglarea sintezei şi secreţiei hepatice a VLDL este în funcţie de trigliceridele care necesită a fi transportate de la acest nivel. În ultimă instanţă, se pare că secvenţele reglatoare finale reprezintă ritmul sintezei apoproteinelor, corelat cu prezenţa lipidelor. Aceasta determină fie sinteza şi secreţia VLDL ca transportori de trigliceride, fie depozitarea trigliceridelor sub forma picăturilor lipidice intracelulare (precursor al steatozei hepatice).

II.3.5. SECVENŢA „OUTPUT" ÎN METABOLISMUL VLDL

Cunoştinţele asupra secvenţei „output" din metabolismul lipoproteic, în general, sînt destul de lacunare. Explicaţia o găsim în complexitatea deosebită a transformărilor suferite în circulaţie de către lipoproteine, consecinţă a relativei independenţe lipido-proteice în această fază metabolică. Astfel, s-au acumulat date care demonstrează un turnover diferit pentru lipidele şi apoproteinele aceleaşi fracţii lipoproteice (130). O altă dificultate este cauzată de necunoaşterea exactă a modului în care sînt secretate lipoproteinele din ficat, izolate sau în asociaţie interproteică. În timp ce secreţia VLDL este certă, nu se poate afirma acelaşi lucru despre LDL care, conform anumitor concepţii, este doar

un produs intermediar în catabolismul VLDL (130, 155). De asemenea, nu se cunoaşte mecanismul secreţiei hepatice alternative a VLDL şi HDL.

Pe baza datelor actuale, secvenţa „output" a VLDL este concepută astfel :

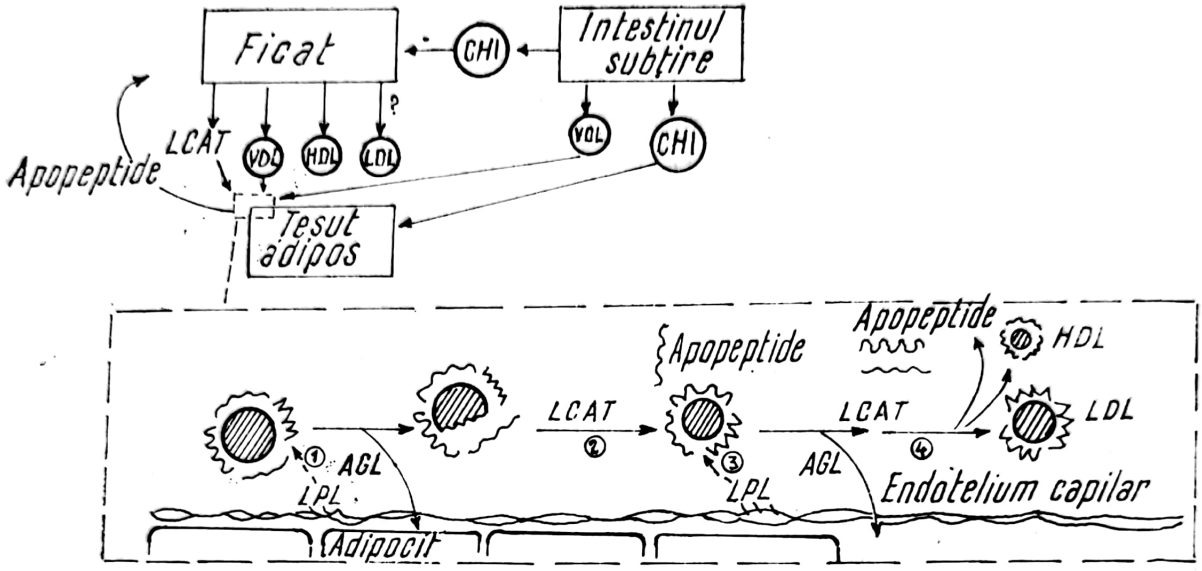


Fig. II.20. — Secvenţa „output" din metabolismul VLDL (VDL în figură) — după Trams şi Brown, 134.

VLDL de proveniență hepatică sau intestinală sînt supuse acţiunii sistemului LPL care, prin hidroliza trigliceridelor, produce modificări ale mărimii, structurii şi proprietăţilor fizico-chimice ale VLDL. Acest „nou" tip de VLDL este supus în continuare acţiunii lizolecitin-colesterol-aciltransferazei (LCAT), care îi îndepărtează o parte din fosfolipide din conţinutul ei. Astfel, treptat, VLDL se transformă în LDL şi HDL. În timpul acestor reacţii se produc şi modificări ale conţinutului proteic ; o parte din apoproteine părăseşte molecula lipoproteică, intrînd, fie în schimb cu HDL, fie reîntorcîndu-se la ficat. De fapt, schimbul apoproteic între HDL şi VLDL este deosebit de important, el asigurînd prezenţa activatorilor necesari activităţii LDL şi ICAT. Vom detalia aceste aspecte.

A. ACŢIUNEA LIPOPROTEINLIPAZEI ŞI LIZOLECITIN-COLESTEROL ACILTRANSFERAZEI ASUPRA VLDL

Acţiunea LPL asupra VLDL se face conform datelor expuse în capitolul anterior. Trebuie menţionat faptul că intensitatea hidrolizei TG-VLDL este proporţională cu mărimea VLDL (59). Pe măsură ce cantitatea de TG scade consecutiv hidrolizei lor, VLDL devine mai mică, creşte în densitate, şi, în cele din urmă, „centrul" trigliceridic este complet acoperit de fosfolipide şi colesterol. În acest moment, activitatea LPL asupra VLDL încetează, marcînd de fapt momentul intrării în acţiune a LCAT (130, 156).

Acţiunea LCAT constă din transformarea unei molecule de acid gras de pe lecitină pe colesterolul liber, ajungîndu-se în final la colesterol esterificat şi lizolecitină, care trece pe albumina serică (156). Astfel, treptat, conţinutul de fosfolipide al VLDL scade, iar cel al colesterolului esterificat creşte, „centrul" trigliceridic este din nou descoperit facilitînd acţiunea LPL. În consecinţă, proprietăţile fizico-chimice se vor modifica din nou. În cele din urmă ar fi posibilă acţiunea concomitentă a LCAT şi LPL, avînd ca finalitate formarea LDL şi, probabil, HDL.

Acizii graşi liberi rezultaţi din hidroliza trigliceridelor urmează căile metabolice cunoscute : în cea mai mare parte ei sînt incorporaţi în adipocit, proces controlat de rata hidrolizei TG-VLDL, dar şi de alţi factori (157, 158).

Referitor la HDL format din catabolismul VLDL, cunoştinţele sînt foarte sărace. De fapt, această transformare este numai presupusă pe baza asemănării apoproteice între cele două lipoproteine şi a relaţiei invers proporţională între concentraţia lor serică (159).

B. MODIFICĂRILE APOPROTEICE

În timpul catabolismului VLDL au loc următoarele modificări apoproteice :

— îndepărtarea apoproteinelor C (apo-LP-ala, apo-LP-glu, apo-LP-ser) rămînînd numai apo-LDL (apoproteina caracteristică LDL). Fenomenul a fost demonstrat experimental cu I^{125}-apo-LP (22).

Schimbul apoproteinelor C, între VLDL şi HDL l-am amintit la metabolismul chilomicronilor. Este vorba de o dublă trecere : pe de o parte apoproteinele C trec de pe HDL pe VLDL (şi chilomicroni), iar, pe de altă parte, fosfolipidele trec de pe aceste ultime două lipoproteine, pe HDL, fenomen ce are loc în timpul lipolizei trigliceridelor lipoproteice prin acţiunea LPL. Semnificaţia funcţională a acestui schimb vizează activarea şi inhibarea LPL prin apoproteinele apo-LP-glu, apo-LP-ala şi apo-LP-ser (într-un grad mai redus). Încheierea procesului de lipoliză este marcată de întoarcerea apoproteinelor C pe HDL (55). Plecînd de la aceste observaţii, se emite conceptul reciclării şi conservării apoproteinelor (22).

Există autori care contrazic acest schimb apoproteic, afirmînd că activatorii şi inhibitorii LPL sînt conţinuţi în înşişi molecula lor (130). Totuşi, sînt experienţe care dovedesc diferenţe apoproteice între compoziţia VLDL sintetizate în intestin (sărace în apoproteine C) şi cele sintetizate în ficat. Perfuzînd intestinul cu apoproteine C marcate se observă incorporarea lor în molecula VLDL. De asemenea, s-a demonstrat un ritm de catabolizare al apoproteinelor C foarte lent (151), ceea ce întăreşte supoziţia existenţei reciclării şi conservării apoproteinelor.

II.4. LIPOPROTEINE CU DENSITATE JOASĂ (LDL)

II.4.1. INTRODUCERE

LDL reprezintă o clasă lipoproteică cu o entitate chimică dubitabilă, avînd rolul principal de transportor în sînge al colesterolului esterificat sau liber (1).

În tabelul II.1. sînt redate principalele caracteristici fizico-chimice ale LDL : densitatea 1,006—1,0635 g/ml Sf = 0—20 şi greutate moleculară de $(2,2—3,5)\cdot 10^6$. Forma moleculei este sferică, avînd diametrul de 170—260 Å. Nomenclatura electroforetică este de beta-lipoproteine sau LDL_1.

II.4.2. COMPOZIŢIA LIPIDICĂ A LDL

În figura II.21. este redată compoziţia unei molecule „tip" de LDL (22) : 75% lipide, 22% proteine, 1% hidraţi de carbon şi 2% neidentificat. Dintre lipide, preponderenţa este asigurată de esterii de colesterol (36%) şi fosfolipide (21%), în timp ce trigliceridele şi colesterolul liber sînt în proporţie de 10%, iar colesterolul esterificat în proporţie de 8%. Raportat la totalul lipidelor, Skipski (1) comunică următoarele date : colesterol total = 40—59% (24—31% colesterol liber şi restul colesterol esterificat), fosfolipide = 28—30%, gliceridele = 7—11% (predominant trigliceride). Acelaşi autor semnalează cantităţi reduse de AGL (1%), hidraţi de carbon şi urme de glicolipide.

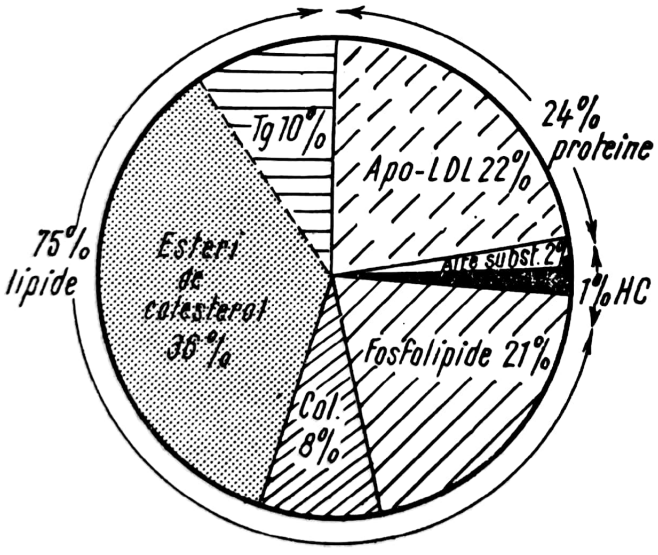


Fig. II.21. — Compoziţia unei molecule „tip" LDL — după Fredrickson, 22.

Dintre fosfolipide (tabelul II.11), proporţia cea mai mare este reprezentată de lecitină (63,7—68,8%) şi sfingomielină (25,3—25,9%). Skipski şi colab. (162) raportează şi cantităţi reduse (2%) de fosfolipide neazotate (fosfatidilinozitol cardiolipine şi acid fosfatidic).

Acizii graşi din compoziţia lipidelor-LDL sînt redaţi în tabelul II.12. Se remarcă concentraţia crescută a acidului stearic în gliceride, a acidului linolenic în esterii de colesterol şi a acidului palmitic în fosfolipide (Goodman şi Shiratori, citat de 1).

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul II.11

Conținutul în fosfolipide a LDL la om, în stare postabsorbtivă (Nelson) și „à jeune" (Phillips și Skipski) (simplificat după Skipski — 1)

Fosfolipidele din LDL		După Nelson (citat de 1)	După Phillips (citat de 1)	După Skipski (162)
Fosfolipidele totale (% din totalul lipidic)		25,0	—	27,8
% din totalul FL	Lecitină	68,8	66,3	63,7
	Lizolecitină	—	4,1	2,7
	Sfingomielină	25,0	25,3	25,9
	Fosfatidiletanolamină } Fosfatidilserină }	5,6	4,4	3

Tabelul II.12

Acizii grași din lipidele componente ale LDL la om (WT%); tabel alcătuit după datele lui Goodman și Shiratori (citat de 1), în care LDL au densitatea 1,019 1,063 g/ml

Acizi grași	LDL din plasma „à jeune"		
	Gliceride	Colesterol esterificat	Fosfolipide
<16 : 0	0,7	—	—
16 : 0	23,1	11,3	36,0
16 : 1	2,8	1,9	0,5
18 : 0	3,3	1,0	14,3
18 : 1	46,6	22,4	11,6
18 : 2	15,7	54,9	18,8
18 : 2—20 : 4	1,5	0,7	4,6
20 : 4	5,4	6,9	13,2

II.4.3. COMPOZIȚIA PROTEICĂ A LDL

Apo-LDL, în concentrație de 22%, este apoproteina specifică a LDL. S-a dovedit că de fapt, este o glicoproteină (22), stratul de hidrați de carbon (4—5% din totalul glicoproteic) fiind reprezentat de galactoză (2,7—3,2%), fucoza (0,3%), glucozamină (1,2%), acid N-acetilneuraminic (0,4—1,5%) (163).

Și în cazul LDL s-a demonstrat prezența mai multor lanțuri polipeptidice (generic numite apo-LDL) (6, 126) a căror compoziție aminoacidică este redată în tabelul II.13. Se remarcă concentrația crescută a acidului aspartic, acidului glutamic și leucinei în proteina nefracționată. În cele trei fracții obținute prin DEAE celuloză, distribuția predominant cantitativă este serină, glicină, acid glutamic (fracția I), acid glutamic leucină (fracția III). Fracția II este o componentă minoră a LDL.

Oncley şi Harvie presupun existenţa a mai mult de 20 lanţuri polipeptidice în molecula LDL cu greutate moleculară mai mare de 2 000 000 (164).

Tabelul II.13

Compoziţia în aminoacizi a polipeptidelor din LDL (V. G. Shore şi V. Shore – 6)

Denumirea aminoacizilor	Proteina nefracţionată	Fracţiunile obţinute prin DE AE celulară		
		1	2	3
Lizina	75	68	70	79
Histidina	22	24	17	22
Arginina	33	18	35	28
Acid aspartic	103	69	89	108
Treonină	65	36	64	60
Serină	91	197	89	111
Acid glutamic	129	156	133	120
Prolina	36	20	55	33
Glicină	48	166	69	64
Alanina	65	77	69	64
Cistina	7	—	14	9
Valină	54	40	57	59
Metionină	21	9	21	15
Izoleucină	50	26	45	50
Leucină	108	43	108	99
Tirozină	34	18	28	26
Fenilalanină	49	18	38	48

Eterogenitatea polipeptidică este cauza probabilă a eterogenităţii LDL (6), deşi fenomenul nu este aşa pregnant ca în cazul VLDL. Se remarcă şi aici variaţia dimensională, invers proporţională cu variaţia în densitate şi direct proporţională cu compoziţia chimică (6).

Exceptînd rolul lanţurilor polipeptidice în inducerea eterogenităţii LDL, dar legat de aceasta, se discută şi variantele genetice ale LDL, avînd ca substrat, tot componenta apoproteică (165—167).

Contrar eterogenităţii polipeptidice, din punct de vedere imunochimic, LDL s-a dovedit a fi omogenă, izolîndu-se anticorpi antibetalipoproteici (168). Între LDL şi HDL nu există comunitate antigenică şi cu toate că LDL şi VLDL au determinanţi antigenici comuni, VLDL sînt şi componenţi antigenici suplimentari (6).

Foarte recent, se reuşeşte cuantificarea apoB (apoLDL) umane, prin utilizarea unei metode radioimunologice foarte precise (209). Se demonstrează astfel, că apoB din LDL este în concentraţie de 72 mg% în timp ce totalitatea apoB din plasmă este de 81 mg%. ApoB din LDL reprezintă deci aproximativ 90% din totalul apoB din plasmă subiecţilor normolipidemici. În HLP tip IV procentul scade la 86%, iar în HLP tip III cifra este de 68% (209). Concentraţia apoB din LDL, creşte corelativ cu vîrsta la femei, fenomen nesemnalat la bărbaţi (209).

Scanned with OKEN Scanner

II.4.4. SECVENȚELE „INPUT-OUTPUT" ÎN METABOLISMUL LDL

Metabolismul LDL, în comparație cu metabolismul VLDL sau cel al chilomicronilor, este mult mai puțin cunoscut. Necunoscutele se ridică atît în cadrul secvenței „input", cît și în cadrul secvenței „output" din sistemul nostru metabolic (fig. II.22.). La modul general, secvența „input"

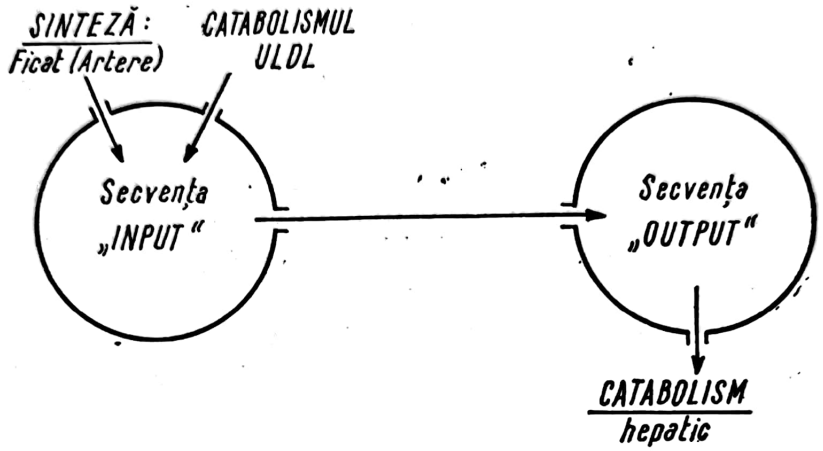


Fig. II.22. — Sistematizarea metabolismului LDL conform sistemului „input-output".

se poate sistematiza ca fiind formată din sinteza LDL în ficat și artere, alături de producerea sa în cadrul catabolismului VLDL. Această ultimă cale este admisă de mulți autori ca fiind, dacă nu exclusivă, cel puțin predominantă din punct de vedere cantitativ. Secvența „output" este reprezentată de catabolismul LDL în ficat, fenomen demonstrat de Hay și colab. (170).

Sinteza LDL în ficat este o certitudine și se presupune că acestea ar fi precursorii VLDL, formă sub care sînt secretate în sînge (137). În acest caz, unica sursă de LDL circulante ar fi catabolismul VLDL, mulți autori pledînd pentru aceasta (161, 58, 137, 160). Se presupune totuși și secreția LDL direct de către ficat, dar în cantitate redusă (130). În sprijinul acestei afirmații este adusă și o experiență mai recentă (169), în care, prin utilizarea H^3 leucinei la maimuță, se demonstrează că apo-LDL nou sintetizate (B-proteina, în original) părăsește ficatul sub 3 forme VLDL (65—76%), lipoproteine cu densitate intermediară (11—14%) și LDL (13—21%).

În cazul secreției hepatice izolate a LDL, nu se cunosc factorii care decid ritmul și proporția acestei secreții raportată la VLDL.

O altă sursă de LDL ar putea fi reprezentată de artere (129), deși pînă în prezent nu se știe dacă în urma sintezei intraparietoarteriale a LDL concentrația lor sanguină se modifică.

Scanned with OKEN Scanner

II.5. LIPOPROTEINE CU DENSITATE CRESCUTĂ (HDL)

II.5.1. INTRODUCERE

HDL reprezintă o clasă de lipoproteine care, din punct de vedere chimic, este mai bine conturată, îndeplinind, alături de LDL, funcţia principală în organism de transport sanguin al colesterolului liber sau esterificat.

În tabelul II.1. sînt redate principalele caracteristici fizico-chimice ale HDL : densitatea cuprinsă între 1,063—1,210 g/ml, cu greutate moleculară de $3{,}86 \cdot 10^5$ — $1{,}86 \cdot 10^5$. Forma moleculelor poate fi alungită, avînd diametrul cuprins între 40 şi 140 Å. Nomenclatura electroforetică este de alfa-lipoproteine.

Problema majoră referitoare la entitatea chimică a acestei clase lipoproteice este cauzată de controversa asupra existenţei subclaselor sale.

Dacă HDL_1 (Sf 0—3) este prezentă în serul normal în cantitate redusă, iar datele despre compoziţia ei chimică sînt foarte reduse, în schimb separarea HDL_2 (densitate cuprinsă între 1,063—1,25 g/ml) şi HDL_3 (densitate cuprinsă între 1,125—1,210 g/ml) a creat o bază de discuţie extrem de controversată. Unii cercetători afirmă că, deşi separarea ultracentrifugală a HDL_2 şi HDL_3 se poate realiza, ea reprezintă un artefact sau, mai degrabă, diferite faze de transformare ale HDL_2 în HDL_3 (171, 172). Totuşi, alte cercetări, bazate pe afectarea diferită a celor două grupe principale de HDL_2 şi HDL_3 în cazuri patologice, consideră că ele sînt entităţi separate (173 — Goffman şi colab., citat de 1). Demonstrarea de către Shore şi Shore (174) a unei diferenţe polipeptidice între HDL_2 şi HDL_3 ar putea fi un argument în sprijinul acestei ultime păreri.

II.5.2. COMPOZIŢIA LIPIDICĂ A HDL

În figura II.23. este redată compoziţia unei molecule „tip“ de HDL (sumarea HDL_1 + HDL_2 + HDL_3) (după Fredrickson, 22) ; 50% lipide, 1—2% glucide şi 48—49% protide.

Dintre lipide, predomină fosfolipidele (27%), esterii de colesterol (16%), colesterolul liber (4%) şi trigliceridele (3%). Raportat la totalul lipidic, Skipski (1) comunică următoarele date : fosfolipidele 42—51%, colesterolul esterificat 21—45%, gliceridele 6,2—7%, AGL 2,6%. Autorii care au studiat diferenţiat HDL_2 şi HDL_3 raportează valori diferite ale componentelor lipidice pentru fiecare subclasă. Detalii asupra acestora

se găsesc în excelenta sinteză teoretică a lui Skipski (1). În componenţa fosfolipidelor, lecitina se găseşte în cantitatea cea mai mare (69,9—80,8%) (tabelul II.14).

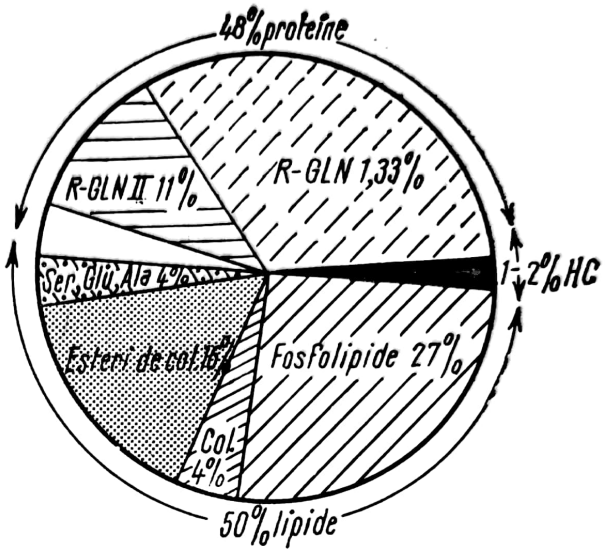


Fig. II.23. — Compoziţia unei molecule „tip" HDL — după Fredrickson, 22.

Tabelul II.14

Conţinutul în fosfolipide al HDL la om în stare postabsorbtivă (Nelson) şi „à jeune" (Phillips şi Skipski) (simplificat după Skipski — 1)

Fosfolipidele din HDL		După Nelson (citat de 1)	După Phillips (citat de 1)	După Skipski (162)
Fosfolipidele totale (% din totalul lipidic		41,4	—	40,9
% din totalul FL	Lecitina	80,8	69,9	77,1
	Lizolecitina		11,2	5,4
	Sfingomielina	11,8	13,6	9,2
	Fosfatidiletanolamina	7,4	5,2	2,5
	Fosfatidilserina			

Tabelul II.15

Acizii graşi din lipidele componente ale HDL la om (WT%). Tabel alcătuit după datele lui Goodman şi Shiratori (citat de 1) în care HLP au densitatea: 1,063—1,21 g/ml

Acizii graşi	HDL din plasma „à jeune"		
	Gliceride	Colesterol esterificat	Fosfolipide
<16 : 0	0,8	—	—
16 : 0	23,4	11,4	31,8
16 : 1	2,9	2,1	0,4
18 : 0	3,5	1,1	14,5
18 : 1	43,8	22,4	12,3
18 : 2	15,9	54,8	20,6
18 : 2—20 : 4	1,2	0,6	3,9
20 : 4	7,6	6,3	15,7

Scanned with OKEN Scanner

Acizii graşi din compoziţia lipidelor HDL sînt redaţi în tabelul II.15. Se remarcă creşterea concentraţiei de acid stearic în gliceride, a acidului linoleic în esterii de colesterol şi a acidului palmitic în fosfolipide (Goodman şi Shiratori, citat de 1).

II.5.3. COMPOZIŢIA PROTEICĂ A HDL

Apo-LP-GLN II (reprezintă principala apoproteină a HDL — 33% din totalul moleculei).

Şi în cazul HDL se demonstrează o eterogenitate proteică, concluzie la care s-a ajuns prin izolarea mai multor lanţuri polipeptidice (6, 126).

În tabelul II.16 (după Shore şi Shore, 6), este redată compoziţia aminoacidică a celor două lanţuri polipeptidice, componente majore

Tabelul II.16

Compoziţia în aminoacizi a proteinelor din HDL umane (V. G. Shore şi B. Shore — 6)

Denumirea aminoacizilor	mol/10^3 mol AA				
	Componentele majore		Componentele minore		
	R—Gln	R—Thr	1	2	3
Lizină	116	79	101	100	77
Histidină	0	22	13	7	14
Arginină	0	67	65	13	51
Acid aspartic	41	95	87	53	83
Trionină	81	38	38	65	47
Serină	81	62	108	114	69
Acidul glutamic	198	183	156	186	186
Prolina	52	38	24	46	42
Glicina	43	45	55	78	47
Alanina	67	76	79	76	83
Cistina (1/2)	15	0	0	15	0
Cisteina	0	0	0	0	0
Valină	76	52	32	65	60
Metionină	15	15	14	8	14
Izoleucină	15	0	30	14	7
Leucină	102	149	111	91	139
Triozină	46	28	25	28	28
Fenilalanină	51	23	38	41	28
Triptofan	0	29	25	0	28

(R-gln I ; apo-LP-thr şi apo-LP-glu sau R-glN II) şi a altor trei lanţuri polipeptidice considerate componente minore, izolate prin DEAE celuloză. Se remarcă predominanţa lizinei, acidului glutamic, leucinei în apo-LP-glu, a acidului glutamic şi leucinei în apo-LP-thr a lizinei, sericinei şi leucinei în componenţa minoră 1 şi 2 a acidului glutamic şi leucinei în compusul minor 3.

Brewer şi colab. (citat de Fredrickson, 22) au elucidat structura apo-LP-gln II ; ea este formată din două unităţi monomerice identice,

fiecare alcătuită din cîte 77 aminoacizi şi legate între ele printr-o punte sulfhidrilică. Acidul aminoterminal blocat (22), apo-LP-thr (R-gln I) este de fapt o glicoproteină. Hidratul de carbon din componenţa sa este format din hexozamină, metilpentoză, hexoză, acid sialic, fiind legat covalent de proteină (171).

Recent (176), s-a izolat o nouă apoproteină în HDL, denumită apo-LP-D sau „thin-line". De fapt, este vorba de un component antigenic, cu afinitate pentru lipide, predominant în HDL, dar evidenţiat şi în VLDL şi LDL. Studii viitoare vor elucida semnificaţia acestei noi apolipoproteine.

Greutatea moleculară a proteinelor nefracţionate din HDL este de 28 000 (7).

Cunoştinţele asupra proprietăţilor imuno-chimice ale HDL sînt contradictorii. Se presupune fie un polimorfism antigenic (Aldjem, citat de 6), fie prezenţa a două sau numai a unui singur antigen (172).

Din punctul de vedere al relaţiei cu lipidele, Gotto şi B. Shore (175) consideră că apo-LP-gln au o mai mare afinitate pentru lipide, în comparaţie cu apo-LP-thr.

II.5.4. METABOLISMUL HDL

Sistematizarea metabolismului HDL în cadrul conceptului „input-output" este redată schematic în figura II.24. Secvenţa „input" este formată din sinteza şi secreţia hepatică a HDL, alături de producerea ei în cadrul catabolismului VLDL. Săgeţile bidirecţionale dintre cele două secvenţe sînt justificate prin schimburile „ciclice" între lipide şi, mai ales, apoproteinele C ale HDL şi VLDL. Deoarece în metabolismul acestei lipoproteine, un rol deosebit îl joacă lizolecitin-colesterol-aciltransferaza va fi detaliată separat.

Sinteza hepatică a HDL şi secreţia ei ca o unitate independentă este o certitudine (58, 130, 156). Factorii care reglează aceste procese nu se cunosc în intimitate dar, prin analogie cu VLDL, se postulează rolul relaţiei colesterol-trigliceride (AGL) — fosfolipide a sintezei apoproteice, cît şi a sarcinilor lipidice de transport de la şi spre ficat.

Catabolismul HDL a fost elucidat numai din punctul de vedere al organo- şi histotopografiei sale (58, 177, 178).

Se demonstrează, prin utilizarea HDL-I^{125} şi a autoradiografiei electronomicroscopice la şobolani, că procesul are loc în lizozomii hepatocitari.

Pentru înţelegerea aportului catabolismului VLDL în cadrul secvenţei „input" a metabolismului HDL, cît şi al rolului jucat de acestea (alături de LDL) în transportul colesterolului, vom detalia aspectele chimice şi funcţionale ale LCAT.

Scanned with OKEN Scanner

II.5.5. (LCAT) LIZOLECITIN- COLESTEROL-ACILTRANSFERAZA

LCAT este o enzimă prezentă în ţesuturile şi sîngele omului, care acţionează asupra lipoproteinelor circulante, catalizînd transferul unei molecule de acid gras din poziţia beta a lecitinei pe poziţia 3-beta-OH a colesterolului liber (179). Consecinţele directe ale reacţiei sînt :

— esterificarea colesterolului ;

— formarea lizolecitinei care se transferă pe albumina plasmatică.

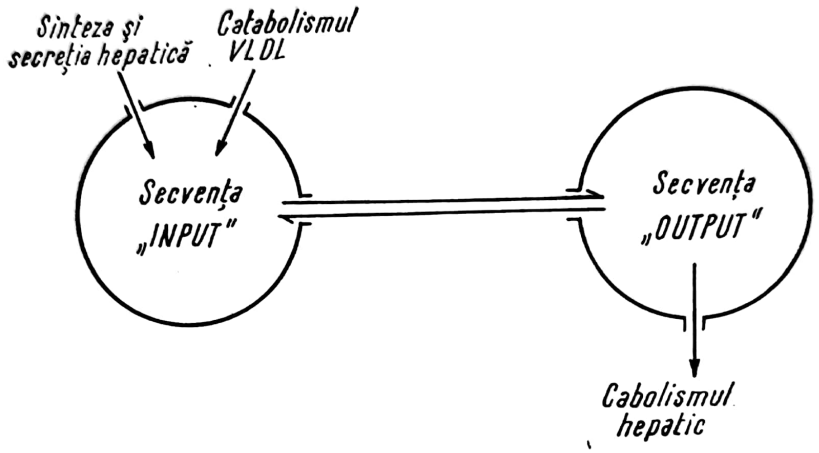


Fig. II.24. — Sistematizarea metabolismului HDL conform sistemului „input-output".

Legat de aceasta, apar alte două consecinţe „indirecte" :

— modificarea compoziţiei lipoproteice ;

— transportul colesterolului de la ţesuturile periferice spre ficat.

Esterificarea colesterolului a reprezentat o problemă care părea rezolvată prin ipoteza existenţei unei colesterolesteraze serice (Sperry în anul 1935, citat de 156). În anul 1962, graţie studiilor lui Glomset, se evidenţiază faptul că reacţia de esterificare a colesterolului este catalizată de o transacilază, conform reacţiei enunţate mai sus (fig. II.25) (156). Vom face unele precizări legate de mecanismul reacţiei, vom detalia proprietăţile enzimei, după care vor fi expuse rolul şi semnificaţia reacţiei catalizează de LCAT. Marea majoritate a referinţelor bibliografice vizează cercetările lui Glomset, care a sintetizat într-o excelentă lucrare teoretică această problemă (156).

A. MECANISMUL REACŢIEI

Din analiza reacţiei prezentată schematic în figura II.25 rezultă că esterificarea colesterolului se face preferenţial cu un acid gras nesaturat. Deşi LCAT acţionează asupra tuturor LP secretate de ficat, se

ştie că, de preferinţă, esterifică colesterolul din HDL apoi LDL şi în cele din urmă VLDL. Fenomenul se explică prin variaţia structurii LP, consecutiv căreia accesibilitatea enzimei la substrat este diferită. Chiar în cadrul HDL, se evidenţiază o reacţie mai accentuată a enzimei cu

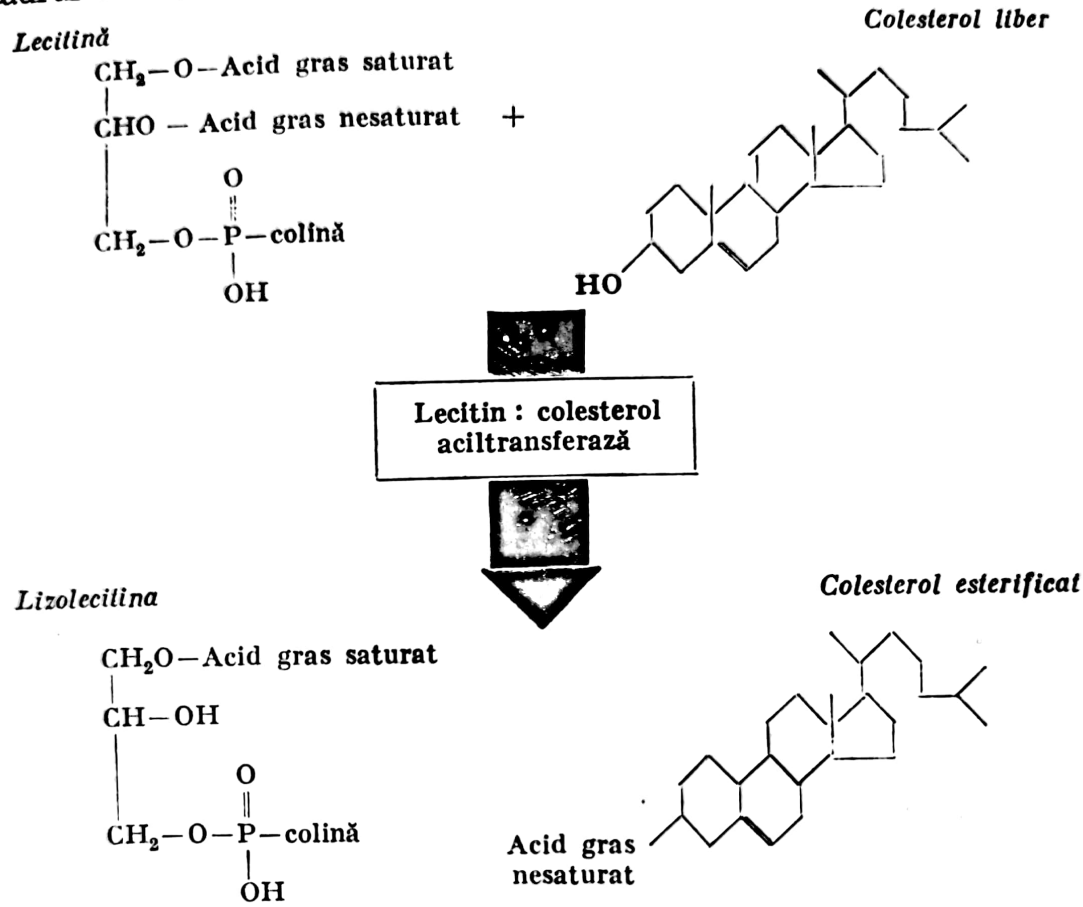


Fig. II.25. — Reprezentarea schematică a reacţiei de esterificare a colesterolului pe care o catalizează LCAT — după Glomset, 156.

HDL cu greutate moleculară mai mică, corespunzător unui raport lecitină/sfingomielină mai mare (156). Nichols şi Gong (180) consideră că fenomenul s-ar datora unei preferinţe a LCAT faţă de agregatele lipoproteice, care conţin lecitină şi colesterol neesterificat în raport de 3/1, comparativ cu acele agregate în care raportul este de 1/1. Akanuma şi Glomset (citat de 156) sugerează că, în ultimă instanţă, reacţia LCAT cu substratul lipoproteic este determinată de capacitatea lipoproteinei de a fixa enzima, acest fenomen fiind datorat, la rîndul său, apoproteinelor din molecula lor. Ideea are într-adevăr un solid suport în cadrul conceptului activării LCAT prin apo-LP-gln.

B. PROPRIETĂŢILE ENZIMEI ŞI REGLAREA REACŢIEI

La om, LCAT se găseşte predominant în ţesuturi, comparativ cu plasma, unde nu are o funcţie fiziologică cunoscută pînă în prezent (156). Se cunosc mai multe metode de dozare a enzimei (156). Purificarea a

fost şi ea realizată, în ciuda dificultăţilor tehnice deosebite, provocate de activitatea mai mare a enzimei faţă de HDL.

Se ştie că enzima are o greutate moleculară variind între 100 000 (156) şi 95 000 (182), aceasta în limita impusă de rezervele asupra purităţii ei.

Pînă în prezent s-au acumulat date care să permită localizarea enzimei în ficat (156, 183, 187, 188, 189, 190). Problema nu este însă elucidată mai ales sub raport reglator. Datorită acestui fapt, nici factorii care influenţează activitatea enzimei nu sînt în întregime cunoscuţi.

In vitro s-a demonstrat activitatea ei optimă la un *p*H variind între 7 şi 8 şi în soluţii saline fiziologice. Temperatura de 56—60°C inactivează enzima, la fel ca şi scăderea *pH*-ului şi creşterea concentraţiei ionice. Acizii biliari (Spery, citat de 156), fosfolipazele (182) şi timolul (Le Breton, citat de 156), sînt, de asemenea, inhibitori ai enzimei.

Factorii care influenţează activitatea LCAT *in vivo* îi notăm astfel :

— greutatea ; studii recente (183, 201) demonstrează o corelaţie directă între creşterea ponderei şi creşterea activităţii LCAT ;

— starea nutritivă ; foamea (184) şi alimentaţia hiperglucidică (185) cresc activitatea LCAT, în contrast cu efectul de scădere a activităţii enzimei obţinut prin dieta formată din acizi graşi polinesaturaţi (186) ;

— lipidele serice ; strîns legat de alimentaţie, dar nu exclusiv pe această cale, apare şi corelaţia LCAT — trigliceride şi colesterol seric (156, 183, 201). S-ar putea ca un element de legătură reglatoare între aceşti parametri să fie reprezentat de insulină cu care LCAT este, de asemenea, în raport corelativ (156) ;

— influenţa vîrstei şi a sexului asupra LCAT la om încă nu este clarificată (156).

C. ROLUL LCAT ÎN ORGANISM

În organismul uman, se recunosc, pînă în prezent, două funcţii majore exercitate de LCAT : modificările lipoproteice şi reglarea colesterolului tisular prin transportul lui spre ficat, în cadrul reacţiei de esterificare a colesterolului. Se mai poate adăuga, fără însă a avea importanţa celorlalte două funcţii, şi formarea lizolecitinei necesară ţesuturilor (156).

MODIFICĂRILE LIPOPROTEICE

Influenţa exactă exercitată de LCAT asupra lipoproteinelor nu este încă cunoscută în întregime, datorită necunoscutelor legate de propriul metabolism (tipul secreţiei hepatice, compoziţia lor în momentul secreţiei şi modificările pe care le suferă intravascular).

Conform concepţiei lui Glomset (156), datele problemei pot fi sintetizate astfel :

— acţiunea preferenţială a LCAT asupra HDL este un proces enzimatic direct, avînd ca finalitate directă esterificarea colesterolului. Ea se cuplează însă cu un proces neenzimatic de transfer al lecitinei şi colesterolului liber de pe VLDL şi LDL pe HDL. Aceste schimburi lipidice

favorizează o altă „mişcare" — trecerea trigliceridelor de pe VLDL pe HDL.

Paralel cu „mişcarea" interlipoproteică a componentelor lipidice, au loc şi schimburi apoproteice pe care le-am amintit : apo-LP-glu, apo-LP-ala şi apo-LP-ser trec de pe HDL pe VLDL şi chilomicroni în timpul acţiunii LPL, după care se reîntorc pe HDL (conceptul „reciclării" sau al „conservării" apo-LP).

Aici vom aminti rolul de activator al apo-LP-thr (R-gln II) în activarea LCAT (191).

O dovadă pregnantă a acestor modificări este variaţia HDL în funcţie de „vîrsta" lor circulantă : HDL în momentul secreţiei din ficat sînt de dimensiuni mai reduse, cu greutate moleculară mai mică şi cu un conţinut mai crescut în lecitină, dar mai redus în esteri de colesterol, în comparaţie cu HDL circulante (îmbătrînite) (156).

MODIFICĂRILE COLESTEROLULUI TISULAR

65—80% din colesterolul plasmatic este esterificat (197), deşi semnificaţia esterificării colesterolului plasmatic nu se cunoaşte. Cea mai plauzibilă explicaţie a sensului acestei reacţii este rolul său în reglarea şi transportul colesterolului tisular spre ficat, unde este catabolizat şi/sau excretat.

Formarea esterilor de colesterol are loc nu numai prin intervenţia LCAT. Se mai cunosc încă două modalităţi (197), şi anume :

a) prin acţiunea acil-CoA — colesterol-aciltransferază, care catalizează unirea colesterolului liber cu acizii graşi activaţi (E.C.2.3.1.26) ;

b) prin activarea colesterolesterazei (E.C.3.1.1.13). Această enzimă intervine în reacţia colesterol liber + AG neionizaţi dînd colesterol esterificat.

În ţesuturi, hidroliza colesterolului esterificat are loc sub acţiunea colesterolesterazei (E.C.3.1.1.13) care acţionează la un pH mai ridicat decît enzimele esterificante.

Aceste reacţii de esterificare şi/sau hidroliză au fost evidenţiate în sînge, ficat, pancreas, intestin, aortă, suprarenale, placentă, ovar, SRH, creier, epidermă, limfă. Totuşi, la om, spre deosebire de animale, se remarcă mari diferenţe de ordin cantitativ în eficacitatea lor.

Prin prisma acestor date, vom prezenta o sinteză a metabolismului colesterolului esterificat (CE) aşa cum a fost efectuată recent de Stokke (197) (fig. II.26).

Esterificarea colesterolului liber provenit din lumenul intestinal (de origine exogenă sau endogenă) are loc în celulele mucoasei intestinale prin intervenţia acil-CoA-colesterol-aciltransferazei (198). În chilomicroni, esterii de colesterol vor fi situaţi, alături de TG, în centrul chilomicronic, în timp ce colesterolul liber şi FL vor fi la suprafaţă. Împreună cu VLDL endogene (hepatice sau intestinale) unde dispoziţia colesterol liber (CL) şi CE este aceeaşi ca în chilomicroni, aceştia vor fi supuşi acţiunii LPL în ţesuturile extrahepatice. Restul chilomicronic este clivat în ficat sub acţiunea colesterolesterazei membranare. Între

timp, LDL se formează ca un intermediar, iar „finalul" metabolic al restului chilomicronic se produce în SRH pe căi necunoscute.

Deoarece colesterolul se sintetizează în orice țesut dotat cu aparat enzimatic corespunzător, în timp ce catabolizarea și excreția sa au loc

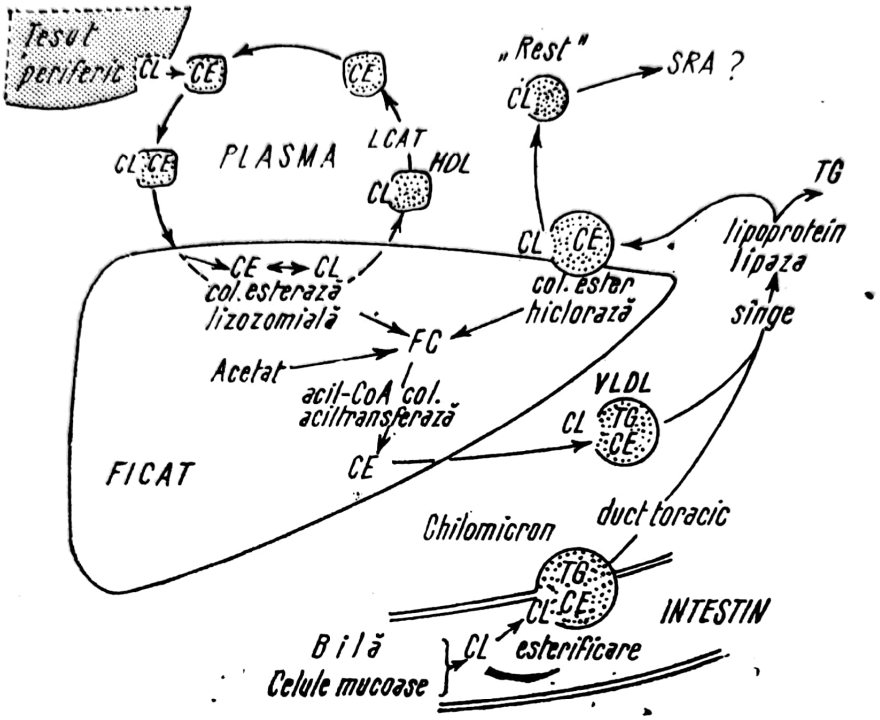


Fig. II. 26. — Metabolismul esterilor de colesterol — după Stokke 197.

numai în ficat, apare obligatorie asigurarea transportului său de la periferie spre ficat. Acest fenomen este realizat prin sistemul LCAT-HDL seric descris de Glomset (fig. II.26). LCAT reacționează cu HDL formînd CE și lizolecitină ; pătrunde în spațiul interstițial unde se produce contactul cu membrana plasmatică a celulelor, de unde extrage colesterol neesterificat care se va situa la periferia moleculei lipoproteice. Aceasta este transportată în ficat unde colesterolesteraza lisosomială hidrolizează CE augmentînd *pool*-ul intrahepatic al colesterolului liber.

Din CL intrahepatic, sub acțiunea acil-CoA-colesterol-aciltransferazei microsomiale, se formează CE care va participa la sinteza VLDL. În felul acesta, sistemul LCAT-HDL seric apare ca un mecanism de eliminare al colesterolului liber excedentar de la nivelul țesuturilor periferice.

Un alt mod de a interpreta rolul LCAT în metabolismul lipoproteic este prin corelarea activității sale cu *pool*-ul anabolic și catabolic al colesterolului la nivelul ficatului, conform concepției lui Sodhi (199) (fig. II.27). Se sugerează că, colesterolul liber este incorporat în lipoproteinele plasmatice ca un component structural. Esterificarea sa este o etapă necesară în metabolismul lipoproteinelor plasmatice.

Yves și Vezina (200) presupun că LCAT are rol în echilibrarea lipidelor și a peptidelor între diferite lipoproteine. În figura II.28 redăm

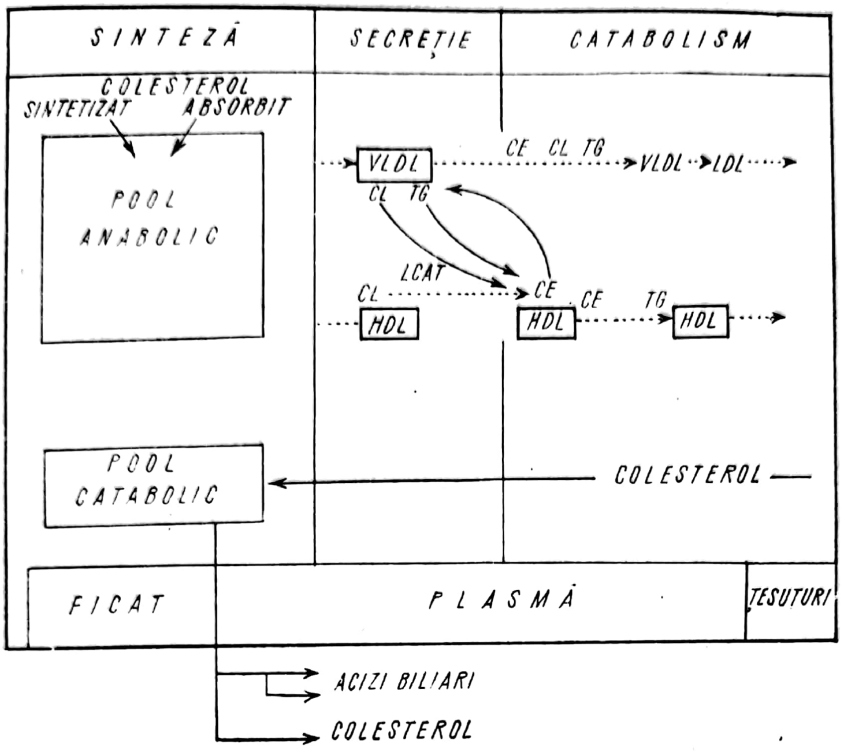


Fig. II.27. — Rolul LCAT în metabolismul HDL, VLDL și LDL; corelația *cu pool*-ul anabolic și catabolic al colesterolului — după Sodhi, 129.

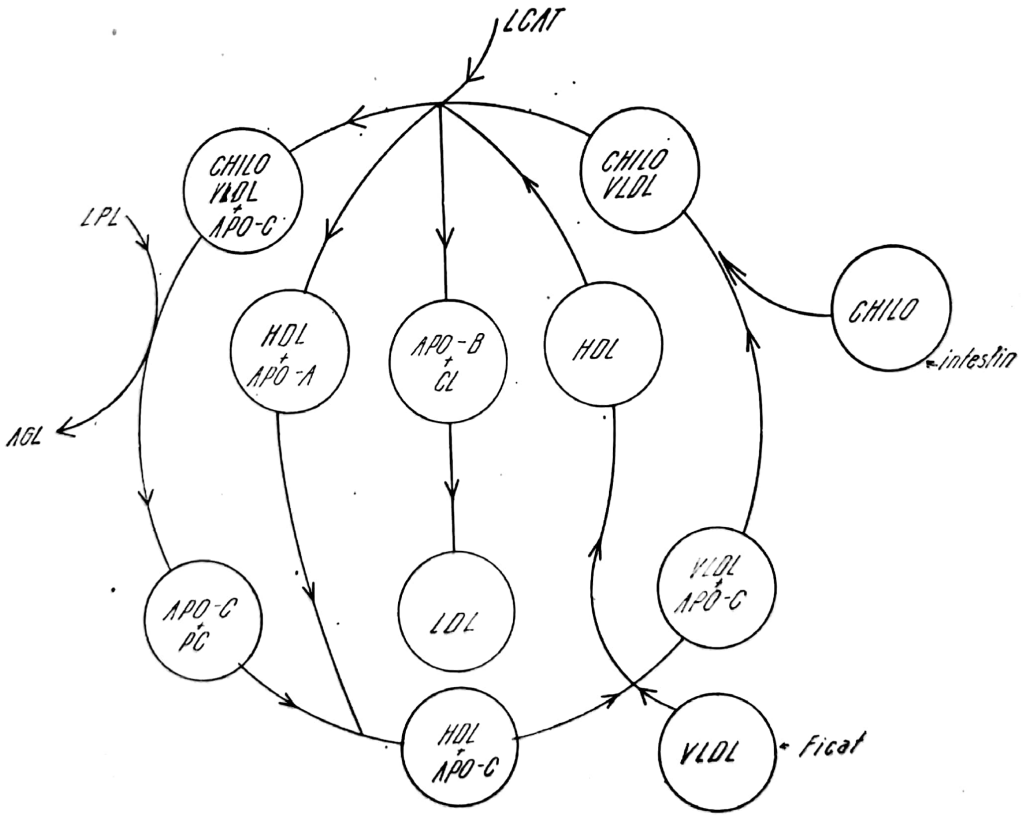


Fig. II.28. — Rolul LCAT în metabolismul lipoproteinelor, corelativ cu schimburile interlipoproteinice de apoproteine — după Yves și Vezina, 200.

schimburile apoproteinice între lipoproteine în cadrul metabolismului lor şi intervenţia LCAT în aceste procese.

II.6. REZIDUUL ULTRACENTRIFUGAL

Reziduul ultracentrifugal cuprinde „restul" lipidic şi protidic de la baza tubului, după îndepărtarea lipoproteinelor majore. Este vorba în special de complexele AGL-albumină, şi de VLDL (tabelul II.1). Dacă semnificaţia primelor este binecunoscută, rolul VLDL nu este elucidat. Oricum, ele participă într-o măsură neînsemnată la determinismul lipidelor şi lipoproteinelor serice, motiv pentru care sînt tratate rezumativ.

Compoziţia lipidică a reziduului ultracentrifugal este redată în tabelul II.17. Se remarcă predominanţa AGL şi a fosfolipidelor.

Tabelul II.17

Conţinutul în lipide al reziduului ultracentrifugal din serul uman. Cu excepţia fracţiunilor fosfolipidice toate cifrele reprezintă procente din totalul lipidic; lecitina, lizolecitina şi sfingomielina sînt raportate la totalul fosfolipidelor. Datele referitoare la VHDL sînt după Alaupovic şi colab. (19)

Componentele din reziduuri ...	După Skipski (162)	VHDL	$VHDL_1$	$VHDL_2$
Glucide totale	10,2	13,2	12,4	3,2
Colesterol total	13,6	4,5	5,9	3,2
esterificat	10,3	2,9	5,0	1,9
neesterificat	3,3	1,6	0,9	1,3
Acizi graşi liberi	29,0	34,0	1,5	38,7
Fosfolipide	26,8	45,5	76,7	53,5
lecitină	47,4	59,5	71,6	28,1
lizolecitină	34,5	21,8	3,5	64,1
sfingomielină	5,7	12,3	11,8	7,7

Conţinutul lipidic raportat la conţinutul protidic este reprodus în tabelul II.18 (după Alaupovic, 193).

Tabelul II.18

Componenta lipidică şi proteică a reziduului centrifugal (după datele lui Alaupovic — 123)

Componentele din reziduuri	VHDL	$VHDL_1$	$VHDL_2$
Lipide	1,82 %	37,6	1,55
Protide	98,18	62,4	98,45

Nu se poate preciza dacă VHDL reprezintă o clasă lipoproteică independentă, sau este un artefact rezultat din HDL, în timpul ultracentrifugării (1).

II.7. LIPOPROTEINE „ATIPICE"

Prin utilizarea metodelor electroforetice, ultracentrifugale şi imunologice s-au descris o serie de LP greu clasificabile. Este vorba de extra-prebeta-LP (prebeta$_1$-LP), prebeta-LP-lente, sinking-prebeta-LP, Lipoproteina Lp(a). Acestea au proprietăţi asemănătoare fie cu LDL, fie cu VLDL motiv pentru care au fost denumite „LP atipice". Deoarece semnificaţia lor nu este încă bine precizată, le descriem rezumativ.

II.7.1. EXTRA-PREBETA-LP (PREBETA$_1$-LP)

Utilizînd electroforeza în gel de agaroză, se evidenţiază la aproximativ 23% din populaţia generală, o bandă lipoproteică extraprebeta sau prebeta$_1$ (204, 205). Au o densitate cuprinsă între 1 050—1 080 g/ml. Proprietăţile fizico-chimice şi semnificaţia ei încă nu se cunosc. A fost evidenţiată la subiecţi normolipidemici şi hiperlipidemici. S-a stabilit chiar o corelaţie cu prezenţa aterosclerozei coronariene (205) şi a lipoproteinei Lp(a). Totuşi nu s-a reuşit încă să se stabilească dacă prebeta$_1$-LP este identică cu sinking-prebeta-LP (206).

II.7.2. PREBETA LIPOPROTEINELE LENTE

Acestea sînt LP care se evidenţiază electroforetic sub forma unei benzi cu mobilitate lentă situată între beta şi prebeta. Fenomenul este mai clar în cazul efectuării electroforezei din supranatantul obţinut prin ultracentrifugarea preparativă ($D < 1\,006$ g/ml).

Se pare că prebeta LP lente reprezintă chilomicroni şi VLDL modificate în urma catabolizării lor periferice. Sînt prezente atît la normo cît şi la hiperlipidemici cu o frecvenţă de 25—35% (206).

II.7.3. SINKING-PREBETA-LP ŞI LIPOPROTEINA-Lp(a)

Electroforeza efectuată din infranatantul obţinut prin ultracentrifugarea preparativă a plasmei ($D > 1\,006$ g/ml), evidenţiază la subiecţi normo sau hiperlipidemici, o bandă cu mobilităţi prebeta, numită : sinking-prebeta-LP. Iniţial s-a crezut că această LP este identică cu lipoproteina Lp(a) descoperită de Berg (165—167) care, de fapt, se evidenţiază uneori şi prin electroforeza plasmei nefracţionate prin ultracentrifugare (plasma globală), sub forma unei benzi cu mobilitate extraprebeta. Cercetări foarte recente (206—207) au aprofundat relaţia între sinking-prebeta-LP şi lipoproteina Lp(a).

Sinking prebeta LP se evidenţiază la 22—25% din populaţia generală. În 91% din cazuri, acestea reflectă prezenţa lipoproteinei Lp(a). Este clar, deci, că între şinking prebeta LP şi Lp-Lp(a) nu este ecuaţie.

Scanned with OKEN Scanner

Densitatea LP-sinking prebeta este situată între 1 063 şi 1 090 g/ml. Subiecţii la care se evidenţiază această LP, nu se diferenţiază de alţi subiecţi din punctul de vedere al concentraţiei colesterolului şi trigliceridelor în clasele majore lipoproteice (206).

Lipoproteina Lp(a) se evidenţiază cu ajutorul imunodifuziunii radiare cantitative, la 92% din populaţia normolipidemică (207). Aceasta demonstrează că LP-Lp(a) este un marker cantitativ prezent la aproape toţi subiecţii. Lipoproteina LP(a) are o distribuţie neuniformă în populaţia generală, nu corelează cu vîrsta, sexul, colesterolul seric total, trigliceridele sau cu concentraţia seria a apoB (207). Aceasta sugerează că LP-Lp(a) este un marker determinat genetic, fie poligenic, fie printr-o singură genă majoră operativă. Există argumente conform cărora lipoproteina Lp(a), este secretată „de novo" de către ficat, fiind deci independentă de VLDL şi LDL. Afirmaţia pare oarecum surprinzătoare, deoarece LP—Lp(a) are o serie de proprietăţi asemănătoare cu LDL (densitate identică, comunitate apoproteică (apoB) şi asemănare antigenică). Este demonstrat totuşi că LP-Lp(a) conţine antigenii apoB şi Lp(a) în timp ce LDL conţine numai antigenul apoB.

Semnificaţia funcţională a lipoproteinei Lp(a) nu se cunoaşte.

REZUMAT

Lipoproteinele sînt macromolecule formate dintr-o componentă apoproteică şi din lipide în diferite concentraţii, care determină în ultimă instanţă proprietăţile lor fizice şi chimice. În funcţie de acestea deosebim :

Chilomicronii, lipoproteine cu diametru mare şi densitate extrem de scăzută, cu un conţinut ridicat de trigliceride. În metabolismul lor deosebim secvenţa „input" formată din mecanismul de sinteză al chilomicronilor la nivel intestinal ; secvenţa „output" care cuprinde hidroliza treptată a gliceridelor chilomicronilor şi catabolizarea restului chilomicronic. În aceste procese, un rol important îl joacă lipoproteinlipaza endotelială.

Lipoproteinele cu densitate foarte joasă (VLDL) au rol în transportul trigliceridelor endogene. În metabolismul lor deosebim secvenţa „input" formată din sinteza lor în ficat, intestin şi peretele arterial, condiţionată de un aparat reglator complex ; secvenţa „output" care cuprinde catabolizarea componentei lipidice (prin activitatea LPL şi LCAT), cît şi a componentei proteice.

Lipoproteinele cu densitate joasă (LDL) provin fie din catabolismul VLDL, fie direct din ficat, unde se pare că se sintetizează şi secretă independent de VLDL (secvenţa „input") ; catabolizarea lor (secvenţa „output") are loc sub influenţa LCAT şi, în special, în funcţie de receptorii specifici ai membranelor celulare.

Lipoproteinele cu densitate crescută (HDL) au, alături de LDL, un rol important în metabolismul colesterolului. Se sintetizează şi se secretă la nivelul ficatului, sau provin din catobolismul LDL şi VLDL. Secvenţa „output" este practic necunoscută.

Scanned with OKEN Scanner

III. INTEGRAREA METABOLISMULUI LIPIDIC ŞI LIPOPROTEINIC ÎN CADRUL FUNCŢIEI GENERALE METABOLICE A ORGANISMULUI

III.1. INTRODUCERE

Metabolismul lipidic şi lipoproteinic în organismul uman şi animal este strîns legat, în primul rînd şi predominant, de homeostazia energetică şi, în subsidiar, de rolul lor plastic. Îndeplinirea funcţiei lor majore presupune integrarea metabolismului lipidic în cadrul marilor funcţii ale organismului, alături de metabolismul glucidic, protidic şi hidroelectrolitic. Aceasta se efectuează :

— fie prin corelaţii intermetabolice pure, gluco-lipido-proteice, aşa cum sînt ilustrate în figura III.1 (integrare intermetabolică) ;

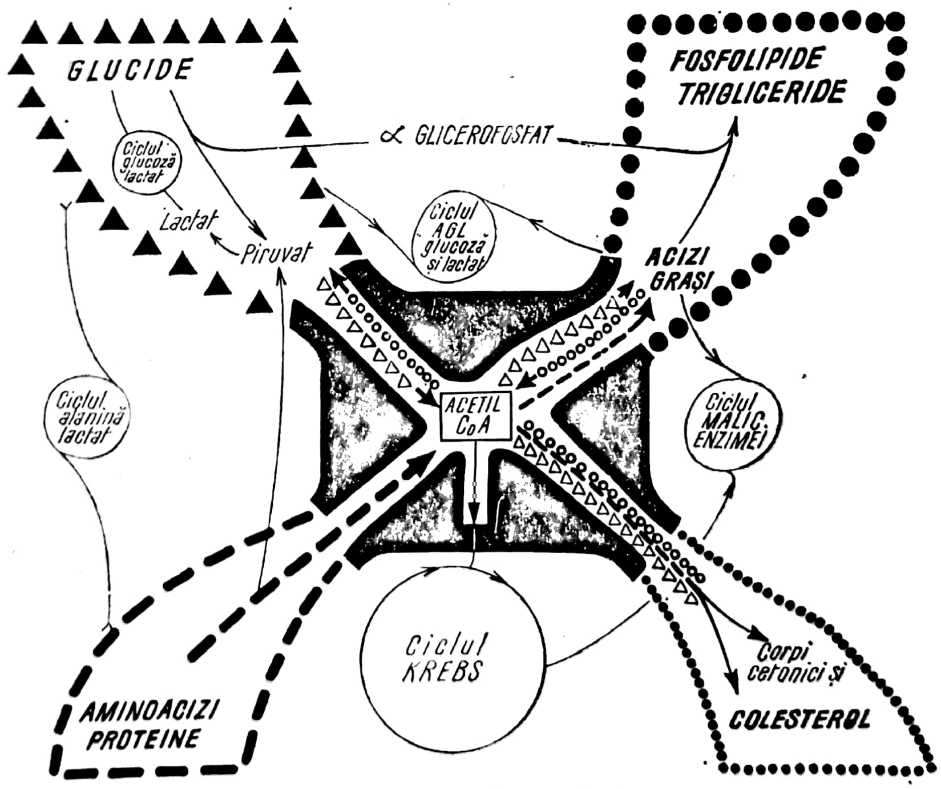


Fig. III.1. — Principalele interrelaţii metabolice în organismul uman.

— fie prin integrarea efectelor funcţionale ale metabolismului lor.

Această defalcare este în mod neîndoielnic fortuită, deoarece în realitate este vorba de acelaşi proces. Căile prin care această integrare se realizează sînt : hormonii, sistemul nervos, alimentaţia pe un fond genetic determinat.

„Ab initio" în cadrul controlului * metabolismului lipidic, se presupune o mişcare permanentă atît a lipidelor sau lipoproteinelor, cît şi a metaboliţilor lor. Iată raţiunea prezentării, în continuare, a unui subcapitol de cinetică lipidică şi lipoproteică.

III.2. CINETICA LIPIDELOR ŞI LIPOPROTEINELOR

Cinetica colesterolului, AGL şi parţial al TG a fost prezentată în capitolul I.2 şi I.3, din consideraţii care vizau, în primul rînd, o bună înţelegere a fenomenelor ; problematica se va relua acum sub un aspect mai general : cinetica corelativă a lipidelor şi lipoproteinelor serice.

III.2.1. CINETICA GENERALĂ A LIPOPROTEINELOR

Concentraţia constantă a lipidelor şi lipoproteinelor în sînge depinde de echilibrul (steady state condition) celor două secvenţe în cadrul sistemului „input-output" al metabolismului lor. În termeni cinetici secvenţa „input" cuprinde volumul „intrărilor" în plasmă (rate of entry), care depinde de gradul sintezei şi de viteza turnoverului. În acelaşi sens, secvenţa „output" se referă la volumul ieşirilor din plasmă (rate of efflux) : clearence, catabolism, viteza turnoverului fracţional (fractional turnover rate) (2).

Investigarea acestor parametri în cazul lipoproteinelor nu a fost comunicată pînă în prezent, probabil datorită complexităţii metabolismului lor lipidic şi protidic sau a dificultăţilor de ordin tehnic, dintre care imposibilitatea incorporării trigliceridelor marcate în lipoproteine, *in vitro* (3). Se cunosc numai date indirecte referitoare la catabolismul diferitelor lipoproteine obţinute prin determinarea timpului de înjumătăţire plasmatică al lipoproteinelor marcate cu I^{131}. În cazul LDL-I^{131} acesta este de 2,4 zile la femei (4) şi 3,1 zile la bărbaţi (5). În cazul HDL-I^{131} valorile sînt de 4 zile, iar pentru VLDL-I^{131} 2—3 zile (6). Rezultă deci că VLDL au cel mai accelerat turnover.

* Noţiunea de control cuprinde reglarea, procesele de comandă, conducere, dirijare şi ghidare în sens cibernetic. Termenul este întrebuinţat în acest sens în limba engleză, avînd tendinţa de a fi încetăţenit şi la noi (1).

Scanned with OKEN Scanner

III.2.2. CINETICA CORELATIVĂ A COLESTEROLULUI ŞI LIPOPROTEINELOR PLASMATICE

Parametrii definitorii ai cineticii şi colesterolului au fost detaliaţi. În cele ce urmează vom reproduce conceptul lui Sodhi-Kudchodkar referitor la cinetica corelativă a colesterolului şi lipoproteinelor plasmatice (fig. III.2) (7). Cercetările lor cu adresabilitate polisecvenţială vizînd me-

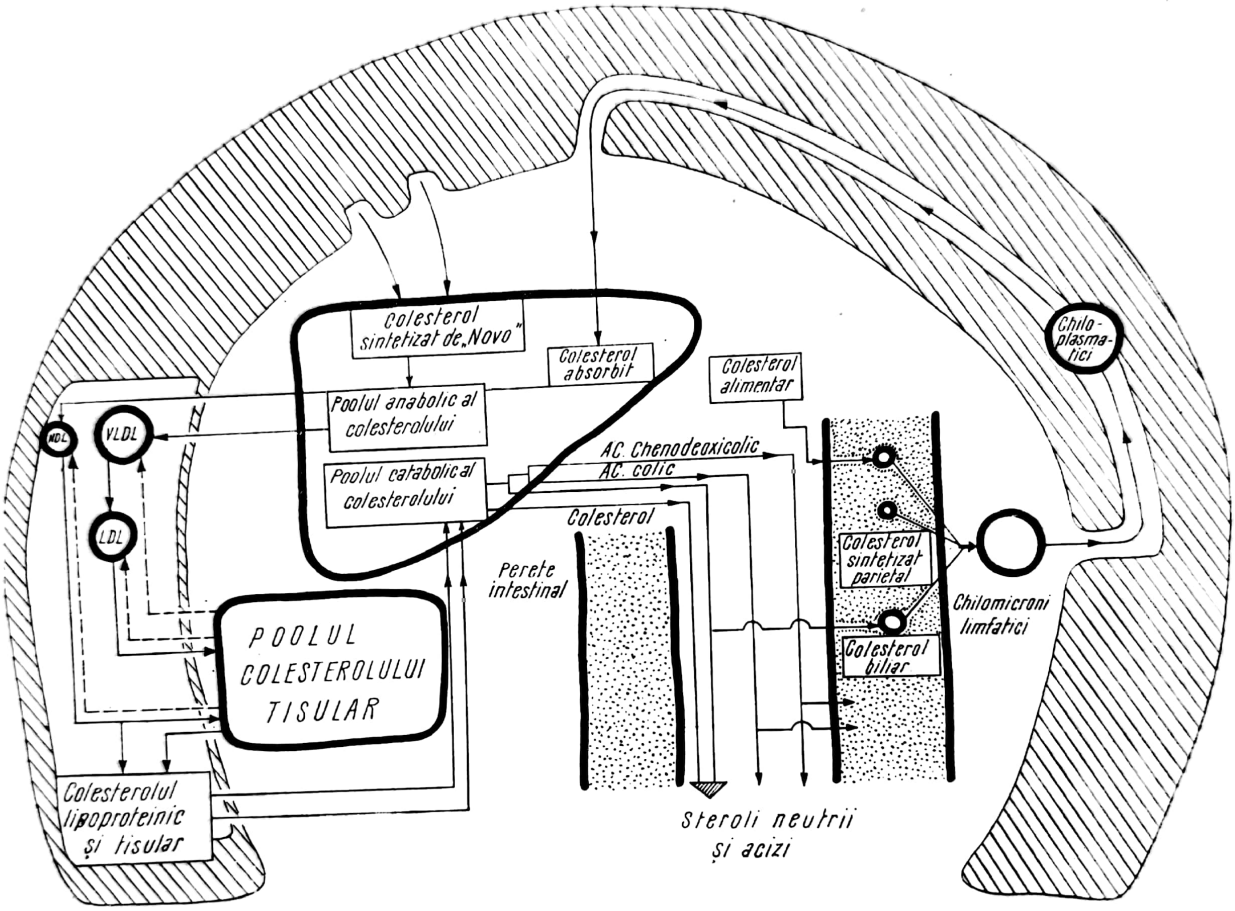


Fig. III.2. — *Pool*-ul anabolic şi catabolic al colesterolului — modificat după H. S. Sodhi şi B. Kudchodkar, 7.

tabolismul colesterolului au condus la ideea că acest sterol se găseşte în organism în două *pool*-uri „funcţionale" : *pool*-ul anabolic şi *pool*-ul catabolic.

Pool-ul anabolic este format din colesterolul sintetizat în ficat împreună cu colesterolul absorbit în intestin şi care, pe calea chilomicronilor, ajunge în ficat. Colesterolul din acest *pool* participă la sinteza VLDL, LDL şi HDL în hepatocit, formă sub care este vehiculat spre ţesuturi.

Pool-ul catabolic este alcătuit din colesterolul hepatic provenit din catabolismul lipoproteic la care se adaugă colesterolul provenit din ţe-

suturi şi transportat la ficat sub forma lipoproteinelor (HDL în special). De aici este eliminat sub forma sterolilor acizi şi neutrii.

Remarcăm deci că în sinteza lipoproteinelor este utilizat numai colesterolul din *pool*-ul anabolic, în timp ce eliminarea sterolilor neutrii şi acizi se face numai prin *pool*-ul catabolic.

În cadrul acestui concept se menţionează promptitudinea cu care colesterolul tisular, prin mobilizarea sa de la acest nivel, echilibrează orice tendinţă de scădere a colesterolului plasmatic, mecanism concordant de altfel cu mecanismele *feed-back* pozitiv sau negativ din cadrul secvenţei „input" sau „output".

Recent, Goldstein şi Brown (243, 246, 249) emit un concept deosebit de interesant asupra relaţiei dintre LDL şi colesterolul tisular. Pe culturi de fibroblaşti umani tegumentari se demonstrează existenţa unor

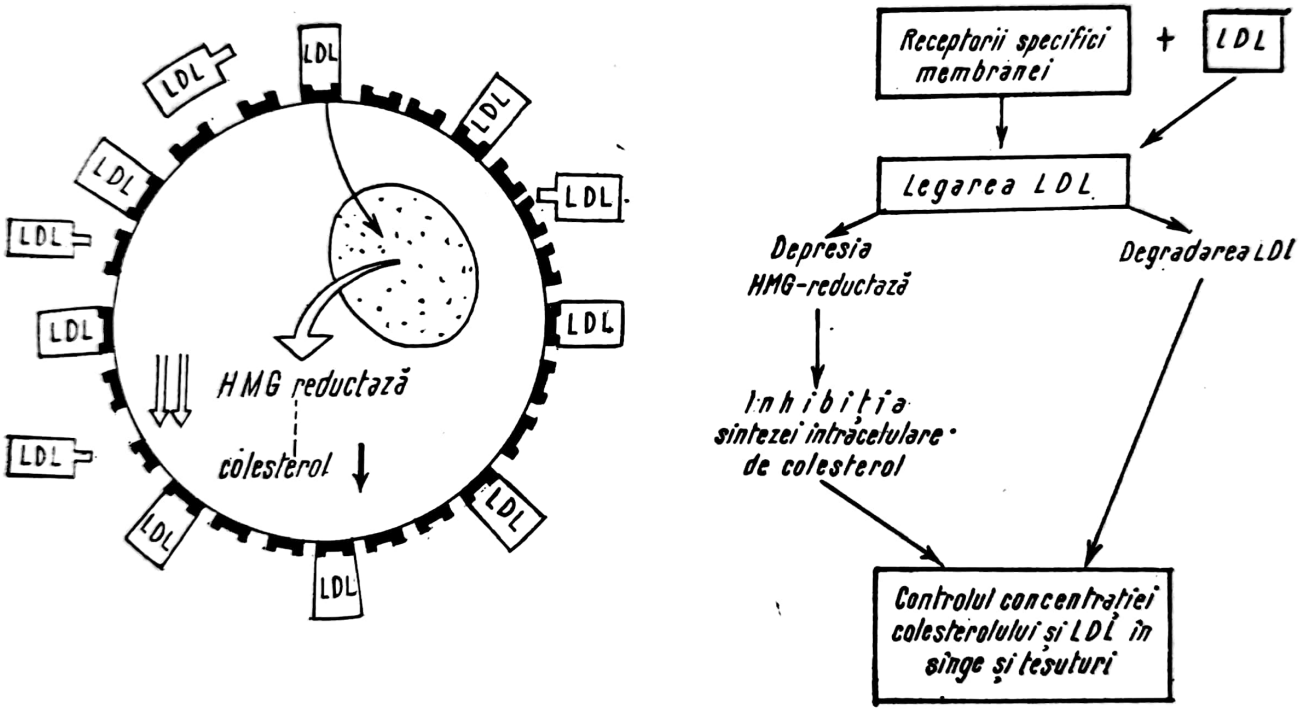


Fig. III.3. — Rolul receptorilor membranari specifici în dereglarea LDL şi în controlul sintezei intracelulare de colesterol; consecinţele interacţiunii dintre LDL extracelulari şi receptori — modificat după Brown şi Goldstein 246 şi 249.

receptori membranari specifici pentru LDL extracelulare. Din interacţiunea dintre LDL şi receptori, rezultă (fig. III.3) :

— pe de o parte degradarea LDL,

— pe de altă parte, inhibiţia HMG-Co A-reductazei intracelulare, în consecinţă, inhibiţia sintezei colesterolului. Între concentraţia LDL extracelulare, activitatea Hm6-reductazei şi colesterolosinteză este un raport invers proporţional.

Este vorba deci de un *feed-back* negativ, prin care cantitatea crescută a LDL extracelulare inhibă sinteza intracelulară a colesterolului.

În concepţia autorilor, un rol cheie în metabolismul LDL şi al colesterolului îl au, deci, receptorii membranari specifici şi interacţiunea dintre aceştia şi LDL.

III.2.3. CINETICA TRIGLICERIDELOR (AGL-TG-VLDL)

În figura III.4 este redată schema transportului AGL-TG-VLDL în sînge. Analiza ei ne conduce la ideea conform căreia TG serice bazale endogene sînt determinate de ritmul producerii lor în ficat, de unde sînt

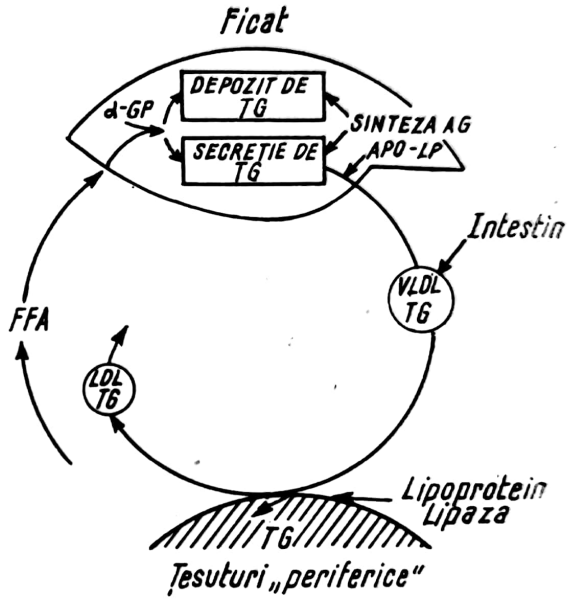


Fig. III.4. — Schema generală a formării şi utilizării trigliceridelor endogene (hepatice şi intestinale). Este posibil ca LDL să provină direct din ficat — după Nikkila, 3.

vehiculate sub forma de TG-VLDL. AGL necesari sintezei TG provin din hidroliza TG de rezervă sau rezultă din sinteza lor „de novo" (3). Participarea cantitativă exactă a TG exogeni, la determinismul TG serice, în stările postprandiale, nu se cunoaşte (3), la fel ca şi etapa limitantă a secreţiei TG endogene (3). Orice metodă cinetică corectă trebuie să se raporteze la aceste secvenţe. Din nefericire, pînă în prezent, nu dispunem de o astfel de metodă perfectă.

Într-o excelentă lucrare teoretică (3) Nikilla sintetizează literatura existentă asupra acestei probleme, sistematizînd astfel metodele utilizate pentru determinarea transportului plasmatic al trigliceridelor la om.

A. EVALUAREA DIRECTĂ A DIFERENŢEI ARTERIOVENOASE A CONCENTRAŢIEI TRIGLICERIDELOR

Metoda se bazează pe principiul determinării TG în segmentul arterial şi venos al arborelui vascular splanhnic, evaluîndu-se astfel direct fluxul trigliceridelor în circulaţie (se subînţelege excluderea aportului exogen de trigliceride (3).

Metoda se bazează pe lucrările lui Carlson, Boberg, Havel (9—11), care au ca deficienţă comună, imposibilitatea aprecierii exacte a diferenţei arteriovenoase.

care, uneori, este de 2—4%, în timp ce variaţia unei singure determinări este de 5%. Aşa se explică faptul că Boberg şi colab. (8) comunică rezultate cu un spectru foarte larg de variaţie, iar Havel (10) sugerează că metoda nu este aplicabilă în stările hipertrigliceridemiante.

B. EVALUAREA INCORPORĂRII AGL MARCAŢI ÎN TG-VLDL PLASMATICE

Metoda este preconizată de Ryan şi Schwartz (12) şi se bazează pe principiul conform căruia AG-TG-VLDL provin numai din AGL plasmatici, neglijîndu-se astfel originea lor hepatică (3). Mai frecvent se întrebuinţează acidul palmitic-1-C^{14}, care se injectează intravenos, urmărindu-se apoi radioactivitatea plasmatică prin diferite metode. Prelucrarea datelor se efectuează prin utilizarea metodelor multicompartimentale. S-au comunicat mai multe lucrări în acest sens (13—15).

Dat fiind că unii autori contestă utilitatea adoptării mai multor metode cinetice datorită scalei largi a valorilor parametrilor cinetici ai TG-VLDL (3), nu le vom detalia.

C. DETERMINAREA TRANSPORTULUI TRIGLICERIDELOR PRIN RATA DISPARIŢIEI RADIOACTIVITĂŢII PLASMATICE A TRIGLICERIDELOR

Principiul acestei metode este administrarea i.v. de precursori marcaţi ai TG-VLDL şi urmărirea radioactivităţii plasmatice (16—19). Raţiunea acestui artificiu metodologic este determinat de imposibilitatea încorporării TG marcate în lipoproteine, *in vitro* (3). Frecvent, se întrebuinţează glicero-H^3-TG ; prelucrarea rezultatelor se face cu ajutorul metodelor multicompartimentale.

D. EVALUAREA TRANSPORTULUI TRIGLICERIDELOR PRIN DETERMINAREA ACTIVITĂŢII LIPOLITICE PLASMATICE DUPĂ INFUZIE DE HEPARINĂ

Metoda este preconizată de Porte şi Bierman (20) şi se bazează pe determinarea activităţii lipolitice plasmatice după infuzia de heparină. Se consideră că metoda nu reproduce condiţiile cineticii fiziologice, fiind pasibilă şi de erori de determinare izotopică (3).

În tabelul III.1 sînt reproduse datele din literatură, referitoare la rata transportului plasmatic al TG la subiecţii cu normotrigliceridemie (după Nikilla). Scala de variaţie extrem de mare se datoreşte metodelor utilizate mai mult (9, 10) sau mai puţin (22, 23) pasibile de erori.

Cercetările lui Nikilla şi colab. (17—19) au conchis că cinetica trigliceridelor la subiecţii normoponderali şi normotrigliceridemici este diferită. Astfel, se consideră că „secvenţa input" este determinată de ritmul de producere (transport) al TG, iar „secvenţa output" este exprimată prin doi parametri Vmax (removal valocity maximum = capacitate maximă de îndepărtare a trigliceridelor) şi KM (constanta Michaelis).

Factorii reglatori acţionează la diferite niveluri :

— dieta afectează ritmul de producere, dar şi sistemul de „îndepărtare" (Vmax. CM) ;

Tabelul III.1

Transportul trigliceridelor plasmatice la subiecţii normotrigliceridemici (mg/h/kg)
Sinteza datelor din literatură
(după Nikkila – 3)

Autorii	Metoda	Transportul TG mg/h/kg
Havel şi colab.	Secreţie chimică	7–12
Boberg şi colab.	Secreţie chimică	7–82
Sailer şi colab.	Palmitat – 1 – C^{14}	3–7
Nestel şi colab.	Palmitat –1–C^{14}	2–6 (obezi)
Quarfordt şi colab.	,,	8–21 (două cazuri)
Eaton şi colab.	,,	4–18
Boberg şi colab.	,,	6–40
Porte şi Bierman	Activitatea lipolitică plasmatică după o infuzie de heparină	5–18
Reaven şi colab.	Glicerol –H^3–TG	2–12
Nikkila şi Kekki	,,	4–15

— cantitatea şi funcţionalitatea enzimelor, condiţionate genetic la rîndul lor, induc valoarea Vmax (28 mg/h/kg — după 19).

În circumstanţe normale (subiecţii normoponderali cu normotrigliceridemie), există o corelaţie liniară între secvenţa „input" (producere, transport de trigliceride) şi logaritmul concentraţiilor serice, dar sub forma a două linii de regresie diferite (18) (fig. III.5), după Nikilla, 19. Aceasta se explică prin variaţia individuală a aparatului enzimatic la

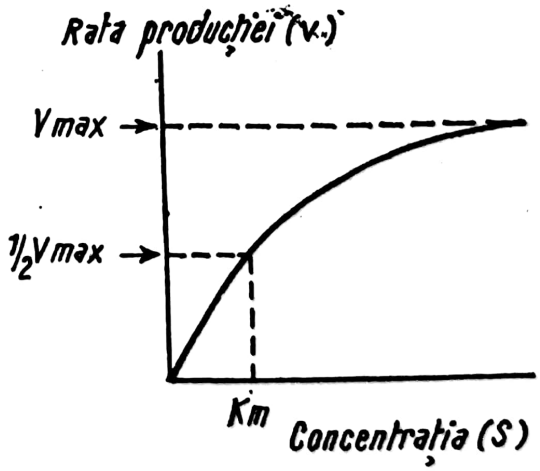


Fig. III.5. — Model cinetic convenţional care ilustrează relaţia între concentraţia trigliceridelor (S=substrat şi rata transportului) (V). La subiecţi normali (K_m = 100 mg/100 ml), ceea ce demonstrează că deasupra acestui nivel concentraţia este relativ rezistentă la modificările fluxului (după Nikkila, 3).

populaţia aparent sănătoasă, probabil condiţionată genetic (3—19), în prezenţa unor factori ecologici diferiţi. În acest sens, se comunică diferenţe între valorile trigliceridelor serice la bărbaţi şi femei pînă la menopauză, fenomen explicabil prin faptul că femeile dispun de un „aparat de îndepărtare" al trigliceridelor serice mai eficient decît bărbaţii (19) (scăderea CM).

Scanned with OKEN Scanner

III.3. ROLUL HORMONILOR ÎN REGLAREA METABOLISMULUI LIPIDIC ŞI LIPOPROTEINIC

Explicarea reglării metabolismelor, deşi a înregistrat progrese evidente este departe de a fi elucidată. Aceasta se datoreşte în mod neîndoielnic complexităţii ei extraordinare, care nu a putut fi scăzută în ciuda transpunerii mecanismelor reglatoare în limbaj cibernetic. Se adaugă apoi şi dificultăţi de ordin tehnic, ceea ce explică în multe cazuri lipsa datelor respective raportate la om.

În cele ce urmează vom detalia reglarea metabolismului lipidic prin cele trei căi reglatoare cunoscute : hormoni, sistem nervos şi alimentaţie în diferite circumstanţe fiziologice. Problema este dificilă deoarece, uneori, delimitarea calitativă şi cantitativă a mecanismelor ce acţionează în circumstanţe fiziologice, sau patologice, este foarte greu de făcut. Din acest motiv, şi pentru evitarea confuziilor, am preferat ca în capitolul de faţă să expunem datele certe, urmînd ca la capitolele hiperproteinemiilor secundare, sau de terapie, să precizăm alte mecanisme, care de fapt influenţează metabolismul lipidic şi lipoproteinic mai mult în cazuri patologice.

III.3.1. MECANISMUL GENERAL DE ACŢIUNE AL HORMONILOR

Situarea acestui subiect la începutul capitolului referitor la reglarea hormonală a metabolismului lipidic şi lipoproteinic are o dublă justificare : pe de o parte, datorită importanţei conceptului celui de al doilea mesager la nivelul celulei ţintă, care a modificat profund hormonologia ; pe de altă parte, datorită faptului că mulţi hormoni implicaţi în lipidoreglare acţionează predominant, dar nu exclusiv, pe această cale *.

În figura III.6. este redată concepţia asupra cAMP considerat al doilea mesager în cadrul mecanismului de acţiune al hormonilor (24—29). Primul mesager (hormonul însuşi) se ataşează la receptorul specific de la nivelul „celulei ţintă“ (target cell) în aşa fel încît activează adenilciclaza. Această enzimă membranară stimulează conversiunea ATP în cAMP (adenozin-3′-5′-ciclic).

Al doilea mesager produce modificările funcţiilor celulare prin activarea proteinkinazelor care, fosforilînd diferite proteine intracelulare, le

* Hormonii îşi execută efectul lor specific pe 3 căi :
a) influenţînd rata sintezei enzimelor şi proteinelor ;
b) afectînd rata catalizei enzimelor ;
c) alterînd permeabilitatea membranei celulare.

influențează activitatea (250). În figura III.7 este redat mecanismul de activare al proteinkinazelor de către cAMP (250). Proteinkinazele sînt formate din două subunități : catalitică și reglatoare, unite sub forma unui complex inactiv din punct de vedere enzimatic. Sub acțiunea cAMP, care se leagă de subunitatea reglatoare, complexul se disociază ; în felul

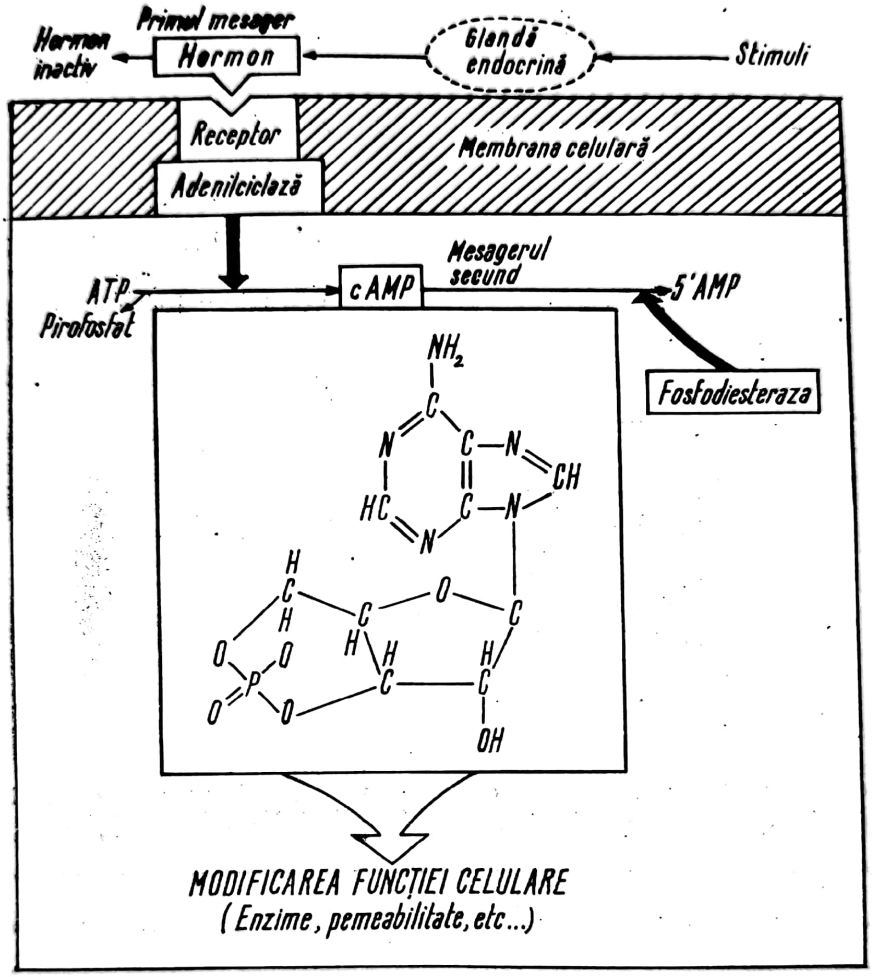


Fig. III.6. — Mecanismul general de acțiune al hormonilor.

acesta, subunitatea catalitică fiind „liberă", devine activă din punct de vedere enzimatic. Astfel, cAMP se comportă ca un efector alosteric.

cAMP este inactivat de către monofosfat-fosfodiesterază (ciclic nucleotid fosfodiesterază) enzimă ubicuitară care desface inelul ribozei (notat în figură), transformînd cAMP în 3′-5′-AMP. La modul general, se afirmă că activarea adenilciclazei induce creșterea cAMP, în timp ce activarea fosfodiesterazei produce inhibiția cAMP. Acțiunea hormonilor pe calea cAMP are loc prin intermediul „receptorului specific" de la nivelul membranei celulare și/sau prin afectarea cantitativă a cAMP intracelular.

În tabelul III.2 sînt redaţi receptorii specifici ai unor hormoni şi localizarea lor aşa cum a fost evidenţiată pînă în anul 1973 (după Lefkowitz, 30). Fără îndoială că lista va fi completată în viitor.

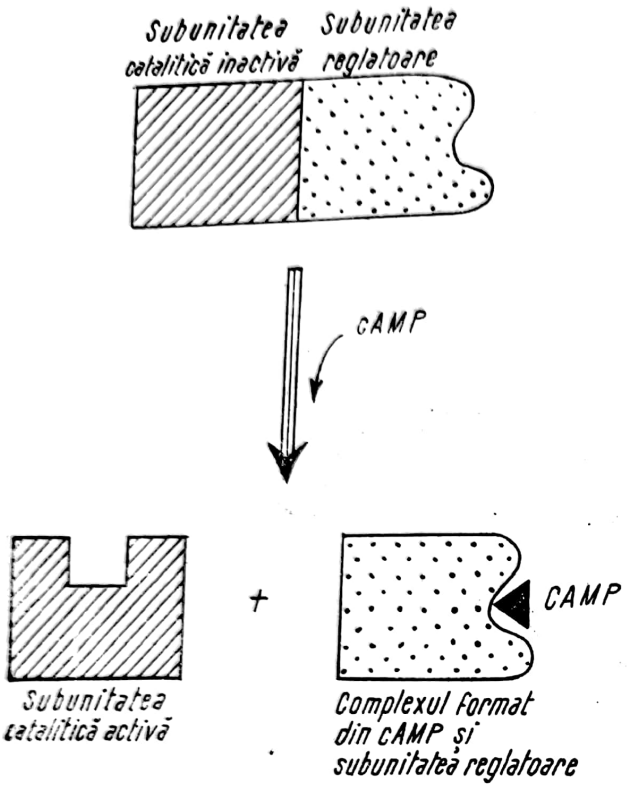


Fig. III.7. — Mecanismul de activare al proteinkinazelor de către cAMP — modificat după Styer, 250.

Tabelul III.2

Receptori specifici pentru acţiunea unor hormoni. (Tabel sintetic după Lefkowitz — 30)
În cazul hormonilor cu rol în lipido-reglare, sursele bibliografice sînt notate în text

Hormonul marcat utilizat	Ţesutul de proveniență al receptorului
ACTH — I^{125}	Cortexul suprarenal
Angiotensină — I^{125}	Cortexul suprarenal
Vasoprenină — H^3	Rinichi
Oxitocină — I^{171}	Adipocite
Insulină — I^{125}	Ficat, ţesut adipos, limfocite fibroblaste
Glucagon — I^{125}	Ficat
Hormonul luteinizant — I^{125}	Ovar
Gonadotrofina cronică — I^{125}	Testicol
Prostaglaudina E_1 — H^3	Ţesutul adipos
Hormonul tireotrop — H^3	Hipofiza anterioară
Norepinefrina — H^3	Inimă, ficat
Epinefrina — H^3	Eritrocite, capsula splenică
Somatotropul	Limfocite

În tabelul III.3 sînt cuprinse rezumativ efectele cantitative ale unor hormoni asupra cAMP intracelular şi consecinţele asupra funcţiilor celulei.

Tabelul III.3

Acţiunea unor hormoni asupra sistemului adenil-ciclază cAMP — fosfodiesterază şi efectul asupra funcţiilor celulare; sinteza datelor din literatură
(↑ : stimulare, creşterea concentraţiei, v = efect variabil)

Hormonul	Ţesut	Efectul PE		Modificarea funcţiei celulare
		Adenil ciclază	cAMP	
Catecolamine (componenta beta)	Ficat	↑	↗	Glicogenoliza ↗ Gluconeogeneza ↗
	Ţesut adipos	↑	↗	Lipoliza ↗
	Muşchi	↗	↗	Glicogenoliza ↗
	Inimă	↗	↗	Acţiune inotropă ↗
Glucagon	Ficat	↗	↗	Glicogenoliza ↗ Gluconeogeneza ↗
	Ţesut adipos	↗	↗	Lipoliza ↗
	Inimă	↗	↗	Efect inotrop ↗
	Insule pancr.	↗	↗	Secreţie insulinică ↗
Tireotrop	Ţesut adipos	↗	↗	Lipoliza ↗
ACTH				Lipoliza ↗
	Ţesut adipos	↗	↗	Agregare ↙
	Trombocizi	↗	↗	Secr. H. tiroidian ↗
Prostaglandine	Tiroidă	↗	↗	Secr. tropilor ↗
	Adenohipofiză	↗	↗	Lipoliza ↙
Insulină	Ţesut adipos	V	↙	Glicogenoliză ↙ Gliconeogeneză ↙
	Ficat	V	↙	
Prostaglandină-ei	Ţesut adipos	V	↙	Lipoliza ↙
Catecolimine (componenta alfa)	Pancreas-ins.	V	↙	Secreţia insulinei ↙
	Trombociţi	V	↙	Agregare ↙

III.3.2. ROLUL INSULINEI ÎN METABOLISMUL LIPIDIC ŞI LIPOPROTEINIC

Insulina este un hormon cu acţiuni predominant, dar nu exclusiv, anabolice. În figura III.8. sînt redate efectele metabolice ale acţiunilor sale în ficat, ţesut adipos şi muşchi, organe care decid în mare parte nivelul lipidelor şi lipoproteinelor serice (31—35).

Mecanismele intime prin care insulina realizează aceste efecte sînt (24, 26, 30, 31, 33) :

— favorizarea transportului transmembranar al glucozei, aminoacizilor, electroliţilor, în special în celula musculară (striată sau netedă), adipocit, leucocite, glanda mamară în lactaţie, fibroblaşti, cartilagiu, os;

— inducerea sintezei unor enzime (33) sau,

— influenţarea activităţii lor pe calea cAMP intracelular (31).

Relaţia insulină-enzime este deosebit de complexă, motiv pentru care nu este cunoscută încă, mai ales la nivel molecular. Încercînd o sinteză a datelor acumulate pînă în prezent, se pot formula următoarele postulări :

a) *inducerea sintezei unor enzime* necesită pătrunderea intracelulară a hormonului unde produce modificări ale expresiei

genetice (gene expression), direct sau indirect, prin modificarea transcripţiei şi/sau a translaţiei DNA în RNA etc. (31, 33). Acesta este un efect al insulinei care se instalează lent, după 2—3 zile fiind independent de sistemul cAMP-adenilciclază. Aşa se întîmplă în cazul inducerii sintezei enzimelor lipogenezei sau a enzimelor glicolitice cheie (31, 33).

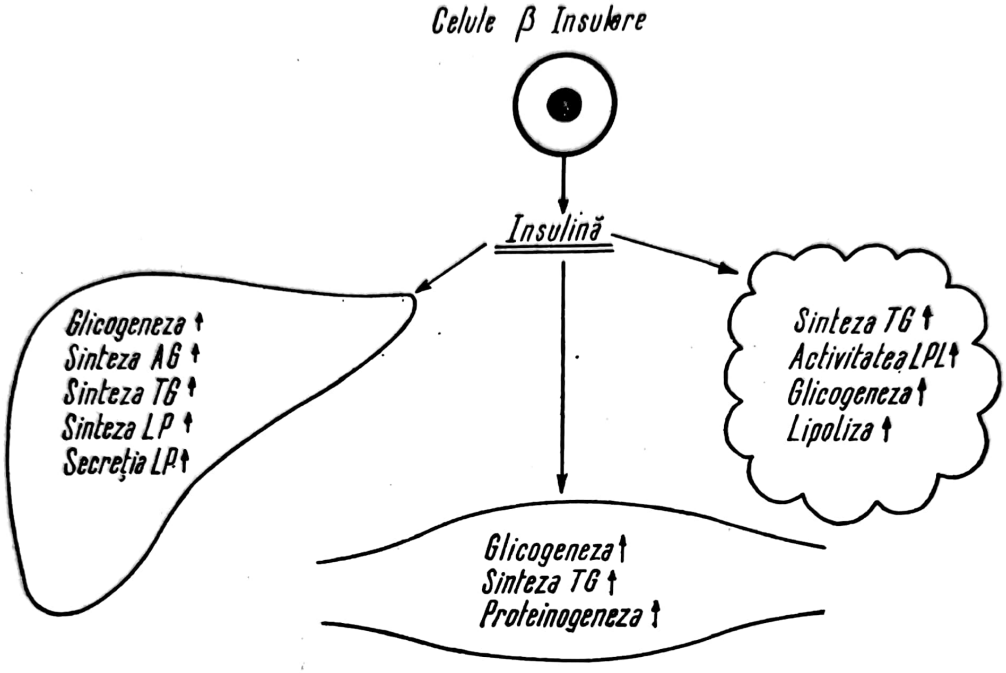


Fig. III.8. — Principalele acţiuni metabolice ale insulinei la nivelul ţesutului adipos, ficatului şi muşchiului striat.

Se emite, totuşi, posibilitatea inducerii sintezelor proteice şi pe calea cAMP (38) ;

b) *influenţarea activităţii enzimelor.* Influenţarea activităţii intracelulară a enzimelor de către insulină se face printr-un mecanism complex care presupune următoarele secvenţe :

— interacţiunea insulinei cu receptorul specific membranar (acţiune primară) în urma căreia are loc ;

— inhibarea adenilciclazei, printr-un sistem transducţional, este foarte importantă, consecutiv căreia cAMP intracelular scade. La aceasta contribuie şi stimularea fosfodiesterazei de către insulină, efect neadmis de unii autori (31). Scăderea cAMP intracelular influenţează activitatea proteinkinazelor * „cAMP dependente" dintre care cele mai importante sînt fosforilazele, glicogen-transferazele, lipaza hormonosensibilă din ţesutul adipos, histonele (77). Efectul general al modificării cAMP se traduce astfel (77) : — cAMP ↗...> fosforilarea proteinelor ↗...> catabolism ↗...> anabolism ↙— cAMP ↙...> fosforilarea proteinelor ↙...> Catabolism ↙...> anabolism.

Aceste efecte ale insulinei nu presupun pătrunderea intracelulară a hormonului.

* Enzime care catalizează transferul fosfatului de pe ATP pe proteine (25).

Se impun unele detalii :

— în urma interacţiunii insulină-receptor specific se produce modificarea proprietăţilor fizico-chimice ale membranei celulare avînd ca efect principal creşterea permeabilităţii sale pentru unele glucide (glucoză în special) aminoacizi, ioni care pătrund intracelular. Fenomenul are loc concomitent cu inhibiţia transducţională a adenilciclazei (31, 39). Larner (40) presupune existenţa unei mici molecule „ciclic X", care ar opera în calitate de intermediar între insulină şi cAMP influenţînd nivelul acestuia. El s-ar forma tot în urma acţiunii primare a insulinei la nivelul receptorului şi ar pătrunde în celulă, în urma modificării proprietăţilor sale fizico-chimice.

S-a emis şi ipoteza că ar exista în membrană (41) o cuplare a receptorului specific cu un sistem de degradare a insulinei, care converteşte insulina într-o formă inactivă. Aceasta presupune că interacţiunea insulină-receptor este de scurtă durată, insulina fiind necesară continuu la nivelul celulei pentru menţinerea acţiunii sale.

Relaţia insulină-enzime constituie şi obiectul a numeroase controverse. Concepţia lui Weber referitoare la inducerea sintezei unor enzime de către insulină este combătută de Fritz (31), care susţine acţiunea insulinei astfel : insulina modifică indirect activitatea unor enzime cu „efect în cascadă" asupra altor enzime a căror activitate se modifică ulterior. Deoarece la nivelul celor trei organe amintite se semnalează acţiuni diferite ale insulinei, ele vor fi detaliate separat.

A. ACŢIUNEA INSULINEI ASUPRA METABOLISMULUI LIPIDIC ŞI LIPOPROTEIC ÎN FICAT

La acest nivel se semnalează particularităţi importante ale metabolismului lipidic :

— pătrunderea glucozei în hepatocit se efectuează fără „ajutorul" insulinei (31), deşi transportul intracelular al aminoacizilor şi electroliţilor este uşurat de către hormoni (31) ;

— captarea trigliceridelor de către ţesutul hepatic are loc fără o prealabilă hidroliză ;

— existenţa în hepatocit a căii gluco-neogenetice (GNG).

Pe acest fond metabolic particular, se notează acţiunea insulinei asupra sintezei următoarelor enzime hepatice mai importante (tabelul III.4) (33) :

— inducerea enzimatică în cazul glicogensintetazei enzimelor glicolitice cheie (glucokinaza, fosfofructokinaza, piruvatkinaza) enzimelor lipogenetice (enzima de clivaj a citratului, acetil-CoA-carboxilaza, sintetaza acizilor graşi) glucozo-6-fosfat-dehidrogenaza, enzima malică şi enzimele implicate în metabolismul timidinei ;

— depresia enzimatică este demonstrată pentru enzimele GNG (glucozo-6-fosfataza, fructozo-1,6-difosfataza, fosfoenol-piruvat, carboxikinaza, piruvat carboxilaza) şi a ciclului uree (OCT, argininsintetaza, argininosuccinaza).

Tabelul III.4

Acţiunea insulinei asupra unor enzime hepatice; consecinţa asupra funcţiilor metabolice (după WEBER – 33)

Enzime induse	Creşterea funcţiilor
Glicogensintetaza Glucokinaza fosfofructokinaza Piruvatkinaza	glicogeneza glicoliza
Enzima de clivaj a citratului Acetil–CoA carboxilaza Sintetaza acizilor graşi	Lipogeneza
Glucozo-6-fosfat dehidrogenaza Enzima malică	Producere de NADPH
DNA polimeraza	Incorporarea timidină în DNA
Trinidin fosforilaza	Degradarea timidină în CO_2
Enzime depresionate	**Scăderea funcţiilor**
Glucozo-6-fosfataza Fructozo-1, 6-difosfataza Fosfoenolpiruvat carboxilază Piruvat carboxilaza	Gluconeogeneza
Ornitincarbamiltransferaza Argininsintetaza Argininosuccinaza	Ciclul ureei
?	Incorporarea orotatului în RNA

Consecinţele metabolice ale acţiunii moleculare a insulinei sînt:

— activarea glicogenezei, glicolizei, lipogenezei, proteino-sintezei, a producerii de $NADPH^+$ (necesar sintezei de acizi graşi) (fig. III.9);

— scăderea GNG şi a ciclului ureei.

Prin afectarea activităţii unor enzime (fosforilaza, lipaza), scăzînd activitatea cAMP, se produce scăderea glicogenolizei şi a lipolizei.

Aceste efecte metabolice directe induc, în continuare, alte modificări, şi anume creşterea sintezei de trigliceride, drept consecinţă a disponibilităţii mărite de alfa-glicerofosfat (42), creşterii sintezei acizilor graşi şi scăderii oxidării acizilor graşi, inhibiţiei lipolizei trigliceridelor din *pool*-ul I. Prin studii cu oleat marcat s-a demonstrat acţiunea insulinei de scădere a oxidării acizilor graşi şi de inducere a esterificării spre gliceride (43).

Relaţia insulinei cu sinteza şi secreţia hepatică a lipoproteinelor este însă în mare parte neelucidată.

Topping şi Moyes (42), în cercetări pe ficat izolat şi perfuzat, evidenţiază creşterea secreţiei de TG-VLDL, dacă lichidul de perfuzie conţine glucoză. Contrar acestei constatări, se comunică scăderea secreţiei hepatice de trigliceride, în urma unei singure doze de insulină, în experiment pe ficat de şobolan (44). Această acţiune este explicată de autori (45) prin scăderea incorporării leucinei în lipoproteinele plasmatice cu

o densitate mai mică de 1,063 g/ml, sub acţiunea insulinei la ficatul izolat şi perfuzat. S-ar putea adăuga la aceasta inhibiţia (sau lipsa inducerii) sintezei VLDL, prin reducerea *pool*-ului intracelular al acizilor graşi (44).

Credem că aceste rezultate nu se resping, deoarece condiţiile de studiu sînt diferite. Mai mult chiar, ele subliniază convingător originea

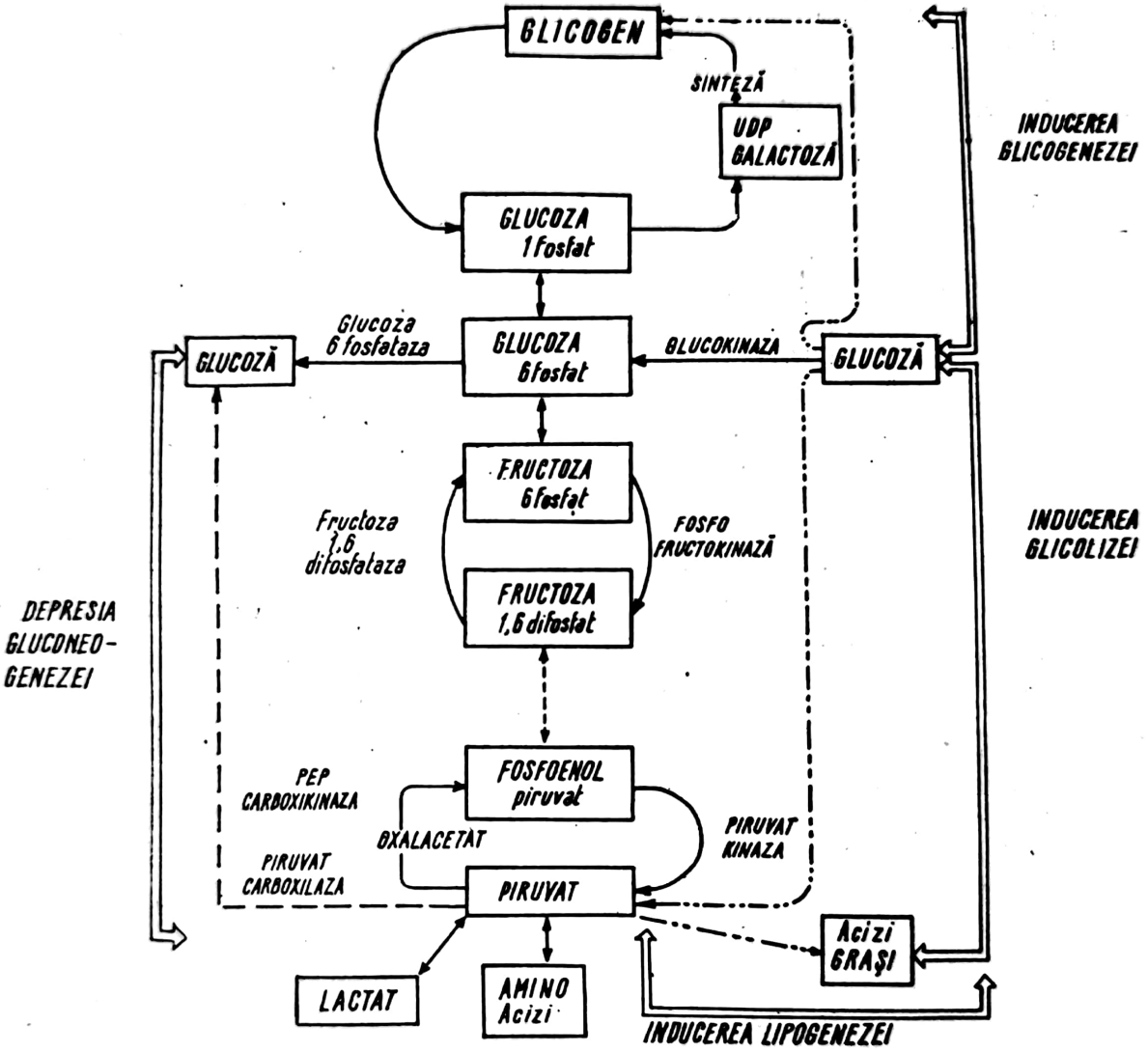


Fig. III.9. — Acţiunea integrativă metabolică a insulinei în ficat privită din punct de vedere molecular — după Weber, 33.

exogenă a precursorilor acizilor graşi care, în ficat, se transformă în acizi graşi, apoi în trigliceride sub acţiunea insulinei. La această concluzie se ajunge prin analiza condiţiilor de experimentare efectuată de Topping şi Moyes (prezenţa glucozei în lichidul de perfuzie) şi prin condiţiile „à jeun" în care se aflau şobolanii din experimentul lui Alcindor. şi colab. (44). În primul caz, insulina produce creşterea sintezei de AG şi apoi de TG-VLDL, iar în cele din urmă, creşterea secreţiei lor (efect dublat de prezenţa concomitentă a fructozei). În cea de-a doua eventualitate, insulina a produs într-adevăr diminuarea lipolizei adipocitare şi

hepatice, şi care nu a putut fi suplinită de o lipogeneză crescută, deoarece precursorii exogeni lipidici lipseau.

Aceasta ar avea ca rezultat cele două efecte diferite asupra sintezei şi secreţiei AG-TG-VLDL. Cercetările anterioare ale lui Nestel (46), în care demonstrează, la om, o corelaţie între fluxul AGL şi fluxul plasmatic de AG-TG-VLDL, sînt în sprijinul afirmaţiilor de mai sus.

Influenţa insulinei asupra sintezei apoproteinelor este din păcate neelucidată, deşi ar putea explica multe aspecte care, în prezent, sînt de mare importanţă în patogenia stărilor hiperlipidemice. Scăderea încorporării aminoacizilor — C^{14} în lipoproteine, la animale cu diabet alo-

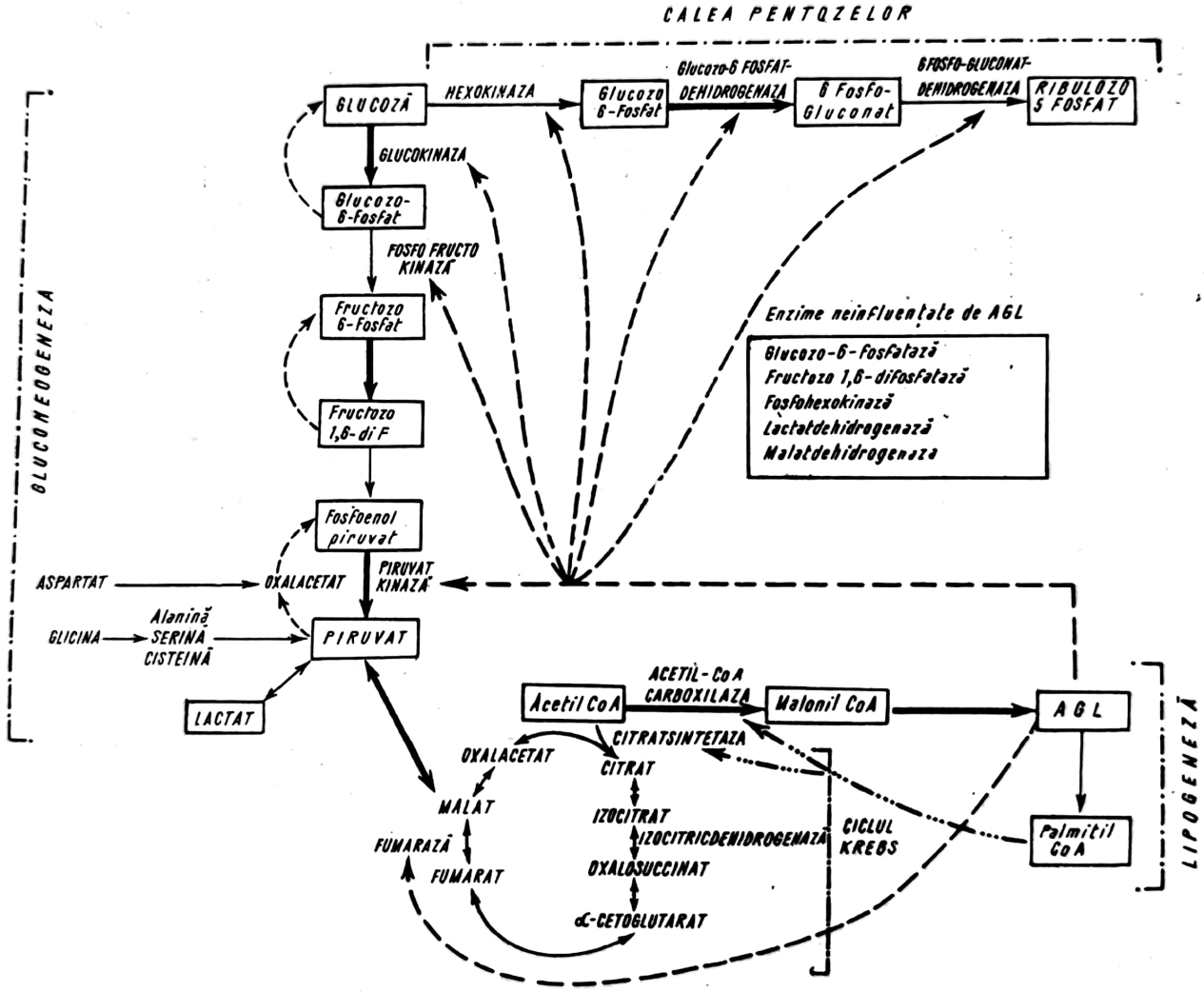


Fig. III.10. — Inhibiţia prin mecanismele de tip *feed-back* a căilor de metabolizare a glucozei în ficat, de către AGL (după Weber 33) :
→ Secvenţa creşterii concentraţiei AGL ; – – – → Dezinhibiţia produsă de scăderea AGL
·····→ Dezinhibiţia produsă de scăderea palmitil CoA.

xanic, ar fi o dovadă indirectă că insulina îşi exercită acţiunea şi la acest nivel, dar neinfluenţarea acestei anomalii prin tratament cu insulină nu a permis elucidarea problemei (47).

O relaţie extrem de importantă, la nivelul ficatului este aceea între AGL şi insulină. După Weber (33), AGL trebuie priviţi ca produşi finali

ai metabolismului glucozei. Insulina scăzînd cAMP hepatic, scade lipoliza trigliceridelor din *pool*-ul I, scade nivelul intracelular al AGL, care are drept consecinţă efectele redate în figura III.10 : dezinhibiţia glicolizei (prin interferenţa cu enzimele cheie), a şuntului pentozelor, a lipogenezei (prin interferenţe la nivelul acetil-CoA carboxilazei) a sintezei

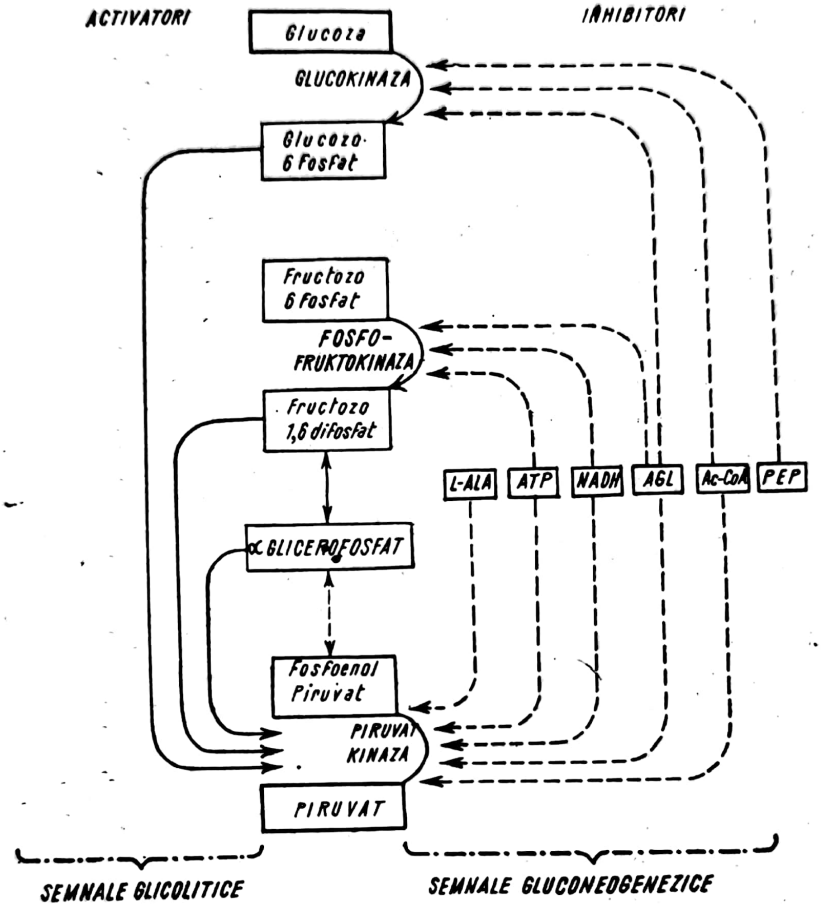


Fig. III.11. — Reglarea activităţii enzimelor „cheie" ale glicolizei (glucokinaza, fosfofructokinaza şi piruvatkinaza) de către semnale moleculare glicolitice şi gluconeogenetice (după Weber — 33).

acizilor graşi şi enzimei malice (33). În strînsă legătură cu aceste efecte, redăm în figura III.11 relaţia AGL şi a unor produşi ai metabolismului lipidic cu glicoliza.

Efectul insulinei asupra metabolismului lipidic, în relaţie cu glucidele şi proteinele de la nivelul ficatului, trebuie interpretat şi prin capacitatea hormonului de a antagoniza la acest nivel efectele glucagonului şi ale catecolaminelor vizînd glicogenoliza, GNG, lipoliza etc. (48).

INSULINA ŞI CETOGENEZA HEPATICĂ

Deşi nu sînt dovezi că insulina interferează enzimele cetogenezei hepatice, s-a demonstrat că hormonul deprimă această cale metabolică. Efectul este reprezentat de consecinţa acţiunii insulinei asupra a cel puţin 4 secvenţe (31—33, 48, 49, 50) ;

— scăderea AGL intrahepatocitari, prin scăderea lipolizei triglicer-idelor hepatice sau a celor adipocitare ;

— creşterea lipogenezei şi scăderea betaoxidării ;

— antagonizarea efectului cetogen al glucagonului şi catecolaminelor de la acest nivel.

Deoarece recent în fibroblastul tegumentar uman s-a demonstrat stimularea HMG-CoA-reductazei şi deci a sintezei colesterolului de către insulină, s-ar putea ca acest efect să fie operant şi la nivelul ficatului (232).

B. ACŢIUNEA INSULINEI ASUPRA METABOLISMULUI LIPIDIC ŞI LIPOPROTEIC ÎN ŢESUTUL ADIPOS

Acţiunea insulinei asupra metabolismului lipidic şi lipoproteic în ţesutul adipos este influenţată de o serie de particularităţi metabolice ale acestui ţesut :

— uşurarea transportului transmembranar al glucozei aminoacizilor şi electroliţilor, de către insulină (31) ;

— captarea şi mobilizarea AGL, graţie activităţii celor două sisteme enzimatice antagoniste, lipoproteinlipaza şi sistemul lipolitic ;

— variabilitatea dimensională a volumului adipocitar în funcţie de topografia ţesutului adipos, care produce variaţii cantitative pe aceeaşi linie metabolică (lipoliză, lipogeneză) (51, 52) ;

— comparativ cu şobolanul (animal al cărui ţesut adipos a fost cel mai mult studiat), la om, se remarcă diferenţa în sensul lipsei sintezei „de novo" a acizilor graşi, scăderii activităţii lipolitice bazale sau stimulate de catecolamine (54) şi reducerii acţiunii lipolitice exercitată la acest nivel de către glucagon, STH, ACTH (54).

Tot ca un element ce conduce la diminuarea lipolizei este demonstrarea prezenţei în ţesutul adipos uman a alfa-receptorilor (55).

În virtutea celor trei mecanisme principale de acţiune a insulinei (favorizarea transportului transmembranar al glucozei, inducerea sau depresia enzimo-sintezelor şi scăderea cAMP), se descriu următoarele efecte ale hormonului la nivelul ţesutului adipos uman (fig. III.12) :

— stimularea transportului transmembranar al glucozei potasiului şi aminoacizilor ; creşterea disponibilităţilor intraadipocitare de glucoză, care în prezenţa insulinei poate urma două căi : sinteza glicogenului şi, mai ales, degradarea glicolitică, cu formarea alfa-glicerofosfatului care esterifică acizii graşi ; astfel, se amplifică sinteza gliceridelor (triglicer-ide în special) (31) şi sinteza DNA (56) ;

— paralel cu aceste efecte, insulina scade nivelul cAMP intraadipocitar, prin inhibiţia adenilciclazei (24—28, 31) sau prin activarea fosfodiesterazei (57) ; drept consecinţă, diminuă activitatea sistemului lipolitic şi scade lipoliza, concomitent cu inducerea sintezei LPL şi creşterea captării AGL din lipoproteinele plasmatice (58).

Uşurarea pătrunderii intraadipocitare a glucozei (în principal), aminoacizilor şi potasiului (în subsidiar), se explică prin acţiunea insulinei asupra calciului din membrană care părăseşte celula, declanşînd contracţia filamentelor membranare. Aceasta determină modificări confor-

Scanned with OKEN Scanner

maţionale membranare traduse în ultimă instanţă pe plan fizico-chimic prin creşterea permeabilităţii ei (59). Fenomenul este întîlnit şi la nivelul celulei musculare (fig. III.13).

Acţiunea globală a insulinei asupra ţesutului adipos se traduce prin mărirea în volum a adipocitelor, efect explicat nu prin stimularea proli-

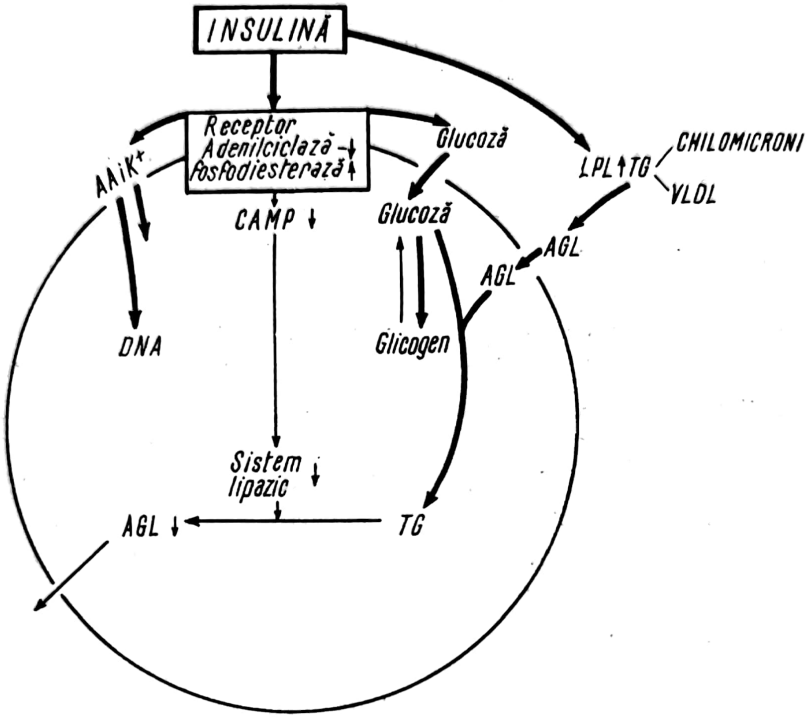


Fig. III.12. — Schema acţiunilor insulinei la nivelul ţesutului adipos uman.

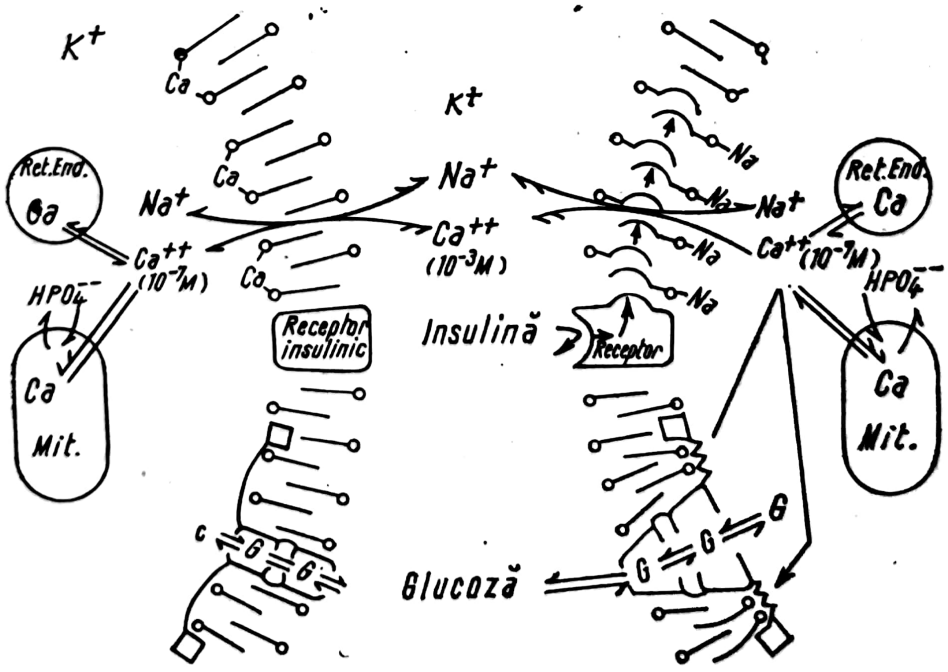


Fig. III.13. — Relaţia insulino-receptor specific membranarcalciu (după Clausen, 59).

ferării stromei (calea DNA), ci prin creşterea conţinutului de trigliceride (56). Recent, se demonstrează „in vivo" creşterea proliferării şi celularităţii ţesutului adipos de şobolan, în urma administrării unor doze mici de insulină (233). De fapt, relaţia insulină-volum adipocitar este mai complexă, în sensul amplificării efectelor metabolice ale hormonului în adipocitele de volum crescut (52). Astfel, s-a demonstrat statistic asociaţia între mărimea celulei adipoase şi insulinemie (60), şi între insulinemie „in vivo" şi încorporarea glucozei în trigliceride „in vitro" (66.) În acelaşi sens, în adipocitul de volum crescut s-a evidenţiat mărirea activităţii enzimelor glicolitice. Aceste fenomene sînt explicate de Bjőrntorp (52) prin existenţa înnăscută a „sensibilităţii" crescute la insulină a unor adipocite, sau prin variaţii în fluxul sanguin la nivelul ţesutului adipos, care produce „expunerea" într-un grad mai mare a unor adipocite la acţiunea insulinei şi/sau a factorilor nutriţionali.

Datele nu sînt unanime în aprecierea acestui efect al insulinei asupra celulei adipoase de volum crescut. Astfel, unii autori (63—65) afirmă că oxidarea glucozei şi încorporarea alfa-glicerofosfatului în trigliceride sub influenţa insulinei este invers proporţională cu mărimea adipocitului. Deoarece aceste discuţii se adresează mai degrabă obezităţii hipertrofice, vor fi continuate la capitolul respectiv.

Unul din efectele cele mai importante ale insulinei la nivelul ţesutului adipos este cel legat de scăderea lipolizei, prin mecanismele descrise anterior : scăderea nivelului intracelular al cAMP şi potenţarea fosfodiesterazei (28, 31, 37). Se pare că la aceasta contribuie şi acţiunea insulinei asupra catabolizării glucozei pe linia gliceridogenezei. Studii recente, efectuate pe ţesutul adipos de şobolan (67) sau pe culturi de ţesut adipos uman (64, 66), evidenţiază complexitatea relaţiei insulină-activitate lipolitică, datorită unor factori mai importanţi cum ar fi variaţia volumului adipocitar, care influenţează atît lipoliza bazală, cît şi răspunsul la stimulii lipolitici cunoscuţi. Lucrările lui Smith pe culturi de ţesut adipos uman (66, 68) atestă influenţa reciprocă volumul adipocitar-insulină nu numai pe linie glicolitică şi lipogenetică, dar şi în ceea ce priveşte influenţarea lipolizei (detalii în capitolul VI.9).

Acţiunea antilipolitică „acută" a insulinei trebuie diferenţiată net de acţiunea sa „cronică" în care apar modificări intracelulare, atît pe linia metabolismului glucozei, cît mai ales pe linia modificărilor enzimatice adaptative (6) :

— starea nutriţională a subiectului, de la care provine ţesutul adipos. Astfel, foamea scade răspunsul adipocitar la acţiunea insulinei în opoziţie cu starea de realimentare (65). Date foarte interesante asupra acestei probleme sînt furnizate de cercetările lui Smith (66) care, în culturi de ţesut uman incubat timp de 6 zile în mediu de glucoză ± insulină (pentru a mima *in vitro* diferite condiţii nutritive), demonstrează intensificarea lipolizei în eventualitatea incubării anterioare în mediu de glucoză + insulină (experiment de scurtă durată) ;

— statusul agenţilor lipolitici. Ideea apare ca deosebit de importantă deoarece pe ţesutul adipos de şobolan (67) s-a demonstrat anta-

gonizarea efectului antilipolitic al insulinei de către catecolamine sau teofilină ;

— relaţia insulină-electroliţi. Rolul calciului în acţiunea insulinei s-a discutat. Efectul insulinei asupra pompei de natriu, cuplată cu influxul potasiului, nu are consecinţe prea importante asupra lipolizei, spre deosebire de acţiunea hormonilor lipolitici (69, 70), deoarece magneziul intracelular este un ion care condiţionează activitatea sistemului lipolitic adipocitar (71). Credem că influenţa insulinei asupra sa merită atenţia unor viitoare cercetări.

Este locul să amintim două fapte de contradicţie :

Cercetările lui Lisch şi colab. (244) converg spre ideea efectului antilipolitic al insulinei, numai în cazul unei lipolize crescute anterior. Lipoliza bazală normală nu este afectată de insulină sau glucoză.

Lavis şi Williams (245) evidenţiază pe adipocitul izolat de şobolan efectul lipolitic al unor doze mari de insulină. Aceasta ar explica lipodistrofia diabeticilor, la locul injectării insulinei, unde se realizează episodic o concentraţie crescută de hormon.

Unul dintre cele mai surprinzătoare efecte (sau mai bine zis, lipsă de efect) ale insulinei la nivelul adipocitului este ineficienţa stimulatoare a hormonului asupra principalelor enzime lipogenetice, a căror activitate în ţesutul adipos uman este oricum extrem de scăzută (72). Astfel putem completa ideea anunţată în capitolul I.3 referitoare la lipsa sintezei „de novo" a acizilor graşi în ţesutul adipos uman, în condiţii bazale sau postalimentare, nu numai prin lipsa enzimelor, ci şi a efectului stimulant al insulinei la acest nivel.

În figura III.14 este redat schematic raportul între cantitatea de insulină şi efectele sale asupra ţesutului adipos, aşa cum este preconizat de Cahill (78).

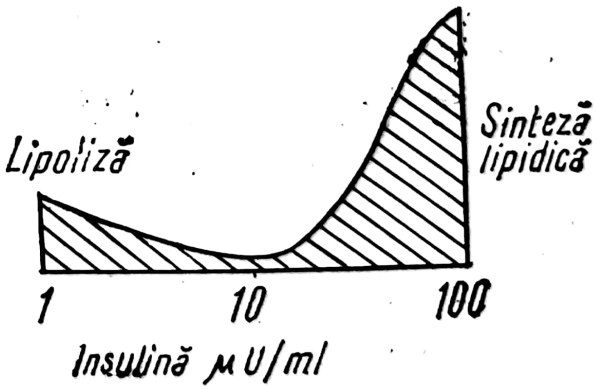


Fig. III.14. — Reprezentarea raportului dintre cantitatea de insulină şi efectele sale în ţesutul adipos (după Cahill, 78).

C. ACŢIUNEA INSULINEI ASUPRA METABOLISMULUI LIPIDIC ŞI LIPOPROTEINIC ÎN ŢESUTUL MUSCULAR

Acţiunea insulinei asupra metabolismului lipidic şi lipoproteinic în ţesutul muscular este influenţată de particularitatea funcţională a acestui organ, vizînd energogeneza în vederea funcţiei sale contractile. În acest sens, menţionăm că efectele exercitate de insulină la acest nivel sînt,

asemănătoare cu cele de la nivelul ficatului şi ţesutului adipos, particularităţile fiind menţionate în cele ce urmează (31, 34, 35) :

— insulina creşte captarea intracelulară a glucozei, aminoacizilor, potasiului, AGL ;

— intracelular stimulează reesterificarea alfa-glicerofosfatului cu acizii graşi, formarea trigliceridelor şi reduce lipoliza ; concomitent, induce glicogenogeneza ;

— reduce proteoliza şi stimulează proteinogeneza.

Mecanismul de acţiune al insulinei la acest nivel este neelucidat. Se cunosc, totuşi, două elemente :

— în cazul celulei musculare nu a fost izolat receptorul insulinic specific, şi

— acţiunea hormonului la acest nivel nu este exercitată prin intermediul adenilciclazei — cAMP, deoarece s-a constatat că insulina nu afectează adenilciclaza din diafragmul de şobolan (75).

D. ACŢIUNEA INSULINEI ASUPRA ACTIVITĂŢII LIPOPROTEINLIPAZEI

Acţiunea insulinei asupra sintezei şi activităţii LPL la om a fost intuită, în urma constatării depresiei enzimei la diabeticii cu deficit net de insulină (74). Ulterior, s-a demonstrat *in vitro* pe ţesut adipos de şobolan (75) activarea enzimei prin insulină. Robinson (58) sugerează posibilitatea inducerii sintezei enzimei „via" cAMP, sau a exercitării controlului la alte secvenţe. Recent, se demonstrează *in vivo* la om (76), creşterea activităţii enzimei în urma injectării i.v. de insulină.

Aceste efecte ale insulinei asupra LPL sînt de o mare importanţă, deoarece, subliniază rolul deosebit jucat de hormoni nu numai în lipogeneză, lipoliză, dar şi în captarea AGL de către ţesuturile energoconsumatoare (muşchi). Prin aceasta, insulina se dovedeşte a fi un factor extrem de activ în procesul de catabolism trigliceridic şi lipoproteic, cît şi în procesul de anabolism trigliceridic şi lipoproteic (prin stimularea sintezelor) în contextul general al cineticii TG-AGL-LP.

E. SECREŢIA DE INSULINĂ ŞI METABOLISMUL LIPIDIC

Eficienţa acţiunii insulinei asupra metabolismului lipidic depinde printre alţi parametri de secreţia sa. În tabelul III.5 şi figura III.15 sînt redaţi factorii care influenţează secreţia de insulină. La capitolul „circumstanţe reglatoare" vom detalia unele aspecte.

Se impune totuşi o sumară discuţie asupra relaţiei AGL-insulinosecreţie. La animale se pare că efectul de excitaţie insulinosecretor este cert (80). La om, rezultatele sînt contradictorii. Unii autori nu remarcă efectele insulinosecretorii ale AGL (81), în timp ce alţii (82) comunică creşterea insulinemiei după ingestia de unt. Se consideră că în ciuda

Scanned with OKEN Scanner

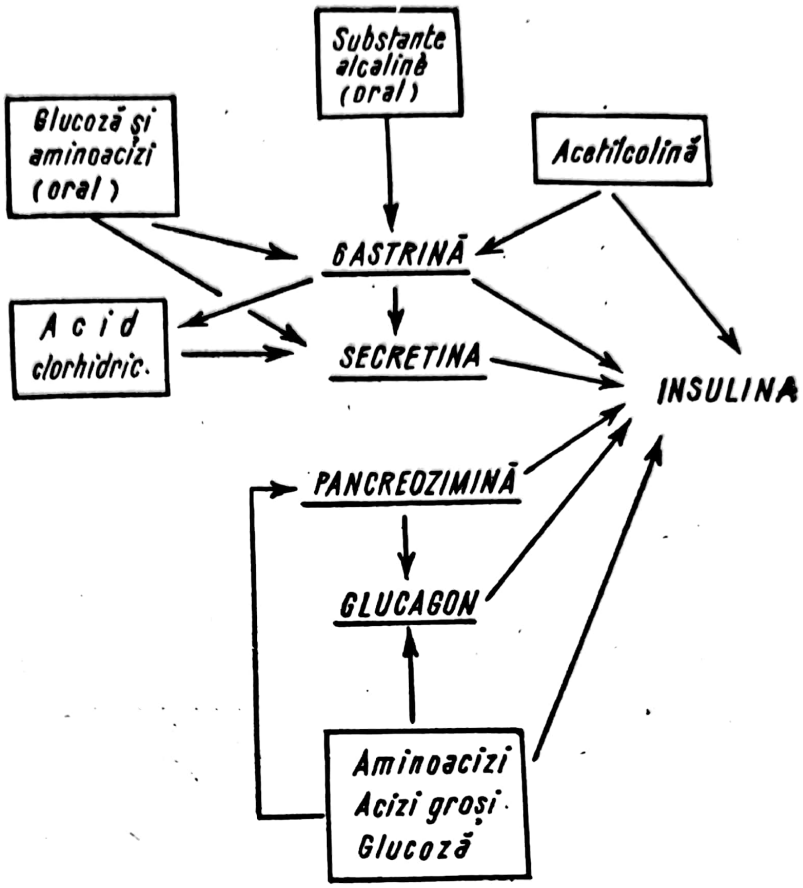


Fig. III.15. — Creșterea secreției de insulină de către gastrină, secretină, pancreozimină și glucagon (după Williams și Ensinck, 79)

Tabelul III.5

Factori care influențează secreția de insulină (după Williams și Ensinck — 79)

	Creșterea secreției de insulină	Scăderea secreției de insulină
Glucide	glucoză, manoză, fructoză, riboză, xilitol, sorbitol, piruvat, citrat	monoheptuloză oleoxiglucoză glucosamină
Aminoacizi	arginină, lizină, leucină, fenilalanină, valină	
Lipide	acizi grași corpi cetonici	
Electroliți	K^+ Ca^{++} Na^+ Mg^{++}	
Hormoni	glucagon, gastrină, secretină, pancreozimină, acetilcolină, prostaglandine, STH, lactogen placentar, ACTH, glucocorticoizi estradiol, progesteron	epinefrină, norepinefrină, serotonină, insulină
Alți compuși	sulfonilureice (acut) cAMP, metilxantine, ATP, blocanți α adrenergici, metacelină, ouabaină, colină	sulfonilureice (cronictiazide, biguanide, blocanți, β-adrenergici, hipoxi, amidazol

unui efect de stimulare insulinosecretor (minim) exercitat de acizii graşi cu lanţ mediu şi lung, rolul acestora în reglarea secreţiei de insulină în stări fiziologice nu poate fi luat în discuţie (80).

III.3.3. ROLUL GLUCAGONULUI ÎN METABOLISMUL LIPIDIC ŞI LIPOPROTEINIC

Glucagonul este considerat în prezent ca „hormonul necesităţilor energetice" (83, 84), concept care incumbă participarea acestui polipeptid în metabolismul glucidic şi lipidic, în special la nivelul ficatului şi muşchiului. Deşi studiile asupra rolului fiziologic al glucagonului s-au înmulţit considerabil (85, 92), mecanismele sale de acţiune la om, mai ales pe linia metabolismului lipidic nu sînt complet elucidate. Aceasta se datoreşte :

— imposibilităţii transpunerii la om a rezultatelor experimentelor animale ;

— interacţiunii glucagonului cu insulina şi catecolaminele, fapt care îngreuiază mult studiul *in vivo* al efectelor sale ;

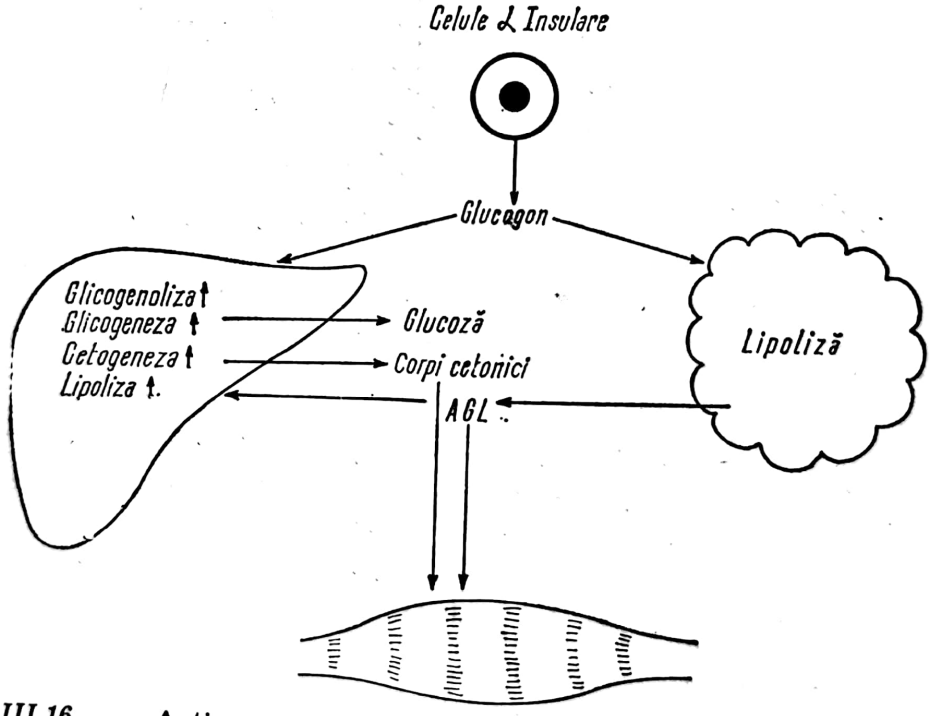


Fig. III.16. — Acţiunea glucagonului asupra metabolismului glucidic şi lipidic în ficat şi ţesutul adipos.

— existenţei „enteroglucagonului" sau a GLI (glucagon like imunoreactive material) în jejun, care în corelaţie cu ceilalţi hormoni enterali, aduc un grad de dificultate suplimentară în interpretarea rezultatelor *in vivo* (93—97).

Datele clasice, care provin în special din experimente pe animale (85—97), evidenţiază următoarele acţiuni fiziologice mai importante ale hormonului (fig. III.16) :

— stimularea glicogenolizei și GNG (fiind prin aceasta hormon hiperglicemiant) ;
— stimularea lipolizei în ficat și țesutul adipos ;
— stimularea cetogenezei hepatice.

Mecanismul de acțiune major al glucagonului se exercită prin sistemul „receptor membranar-adenilciclază-cAMP-proteinkinaze" (figura III.17 și III.18). O parte din datele ilustrate în figura III.17, care redau concepția lui Rodbell (citat de 84) referitoare la mecanismul de acțiune al glucagonului la nivelul adipocitului sînt valabile și în cazul hepatocitului, sau chiar a celulelor betainsulare, unde s-au evidențiat receptorii membranari specifici pentru glucagon (37).

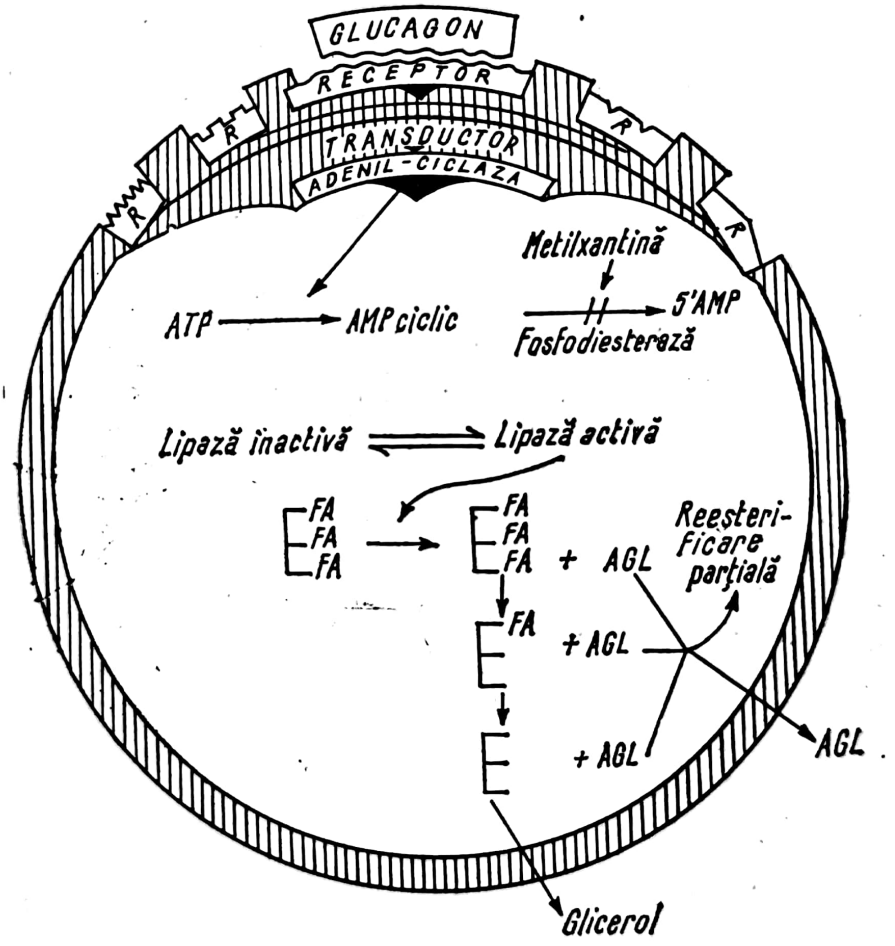


Fig. III.17. — Modul de acțiune al glucagonului la nivelul adipocitului, conform teoriei lui Rodbell (după Lefebvre, 84).

A. ROLUL GLUCAGONULUI ÎN METABOLISMUL LIPIDIC ȘI LIPOPROTEINIC ÎN FICAT

Ficatul este primul organ întîlnit de glucagon, după secreția sa în vena portă (84). Exceptînd efectul asupra metabolismului glucidic „via" cAMP, hormonul stimulează lipoliza prin același mecanism redactat în figura III.18).

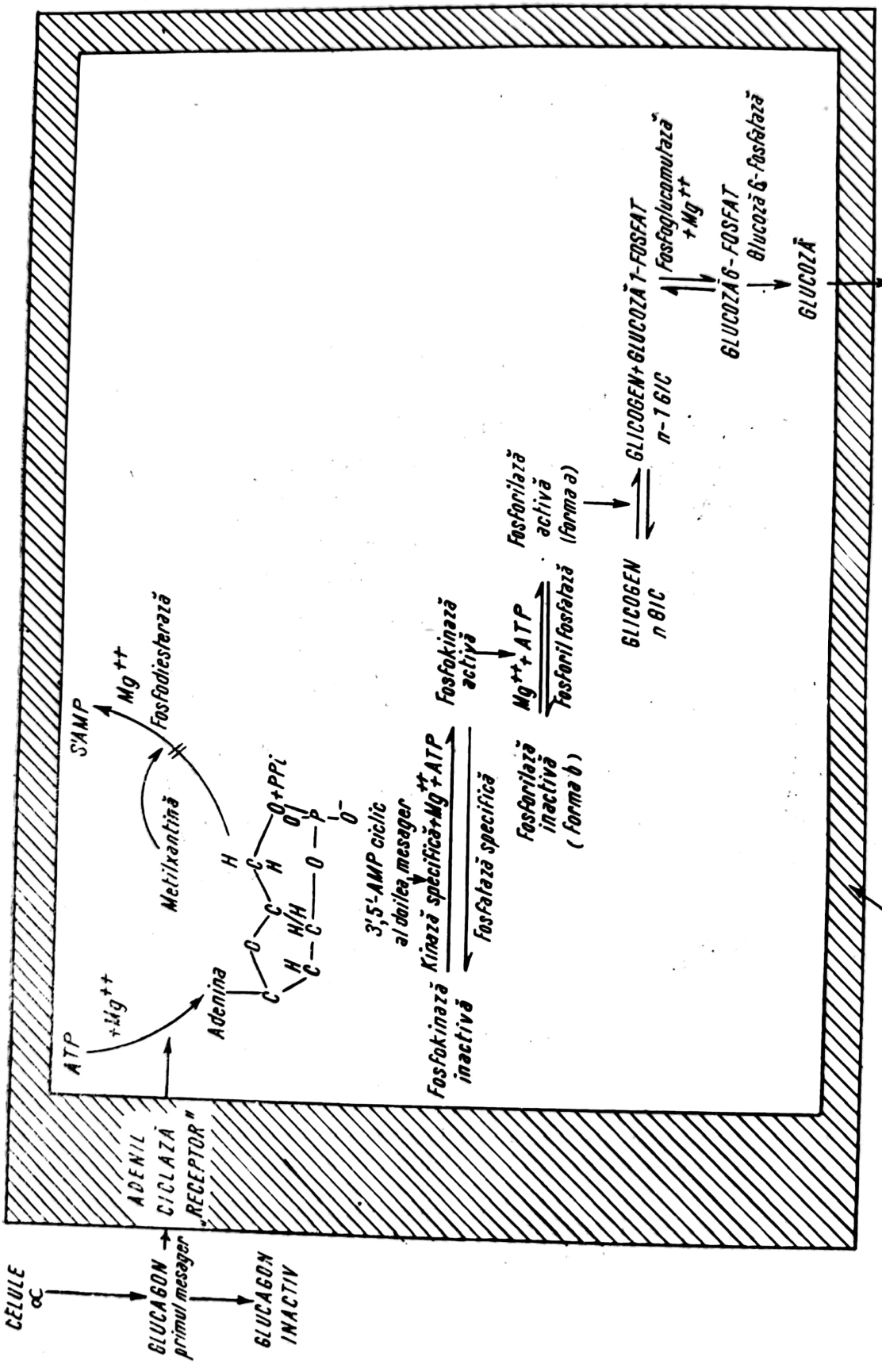


Fig. III.18. — Modul de acţiune a glucagonului la nivelul adipocitului (după Lefebvre, 88).

Scanned with OKEN Scanner

Sub acțiunea glucagonului AGL rezultați din lipoliza intrahepatică, sau cei sosiți la ficat de la nivelul țesutului adipos nu sînt convertiți spre trigliceride, ci spre oxidarea lor incompletă (cetogeneză) sau completă în ciclul Krebs (97, 98). Se presupune efectul de stimulare al GNG și cetogenezei prin creșterea intrahepatocitară a AGL, deși nu toți autorii sînt de acord cu această idee (99).

Recent (100, 101), studii *in vivo* de mare acuratețe, efectuate la om, evidențiază stimularea producției intraadipocitare de cAMP. Se pare că efectul este direct și nu prin intermediul catecolaminelor a căror stimulare este ulterioară. Activarea secreției de insulină de către glucagon reduce în timp efectul acestuia asupra cAMP hepatic.

Aprecierea corectă a rolului glucagonului asupra metabolismului lipidic și glucidic în ficat, în condiții fiziologice, trebuie să țină seama de raportul insulină/glucagon. Astfel, s-a demonstrat că în concentrație echimoleculară efectul lipolitic și cetogenetic al glucagonului este abolit de către insulină, în timp ce efectul glicogenolitic și deci hiperglicemiant al glucagonului nu este influențat (101).

B. ACȚIUNEA GLUCAGONULUI ASUPRA METABOLISMULUI LIPIDIC ȘI LIPOPROTEINIC ÎN ȚESUTUL ADIPOS

Cercetări mai vechi (86, 102, 104) au demonstrat efectul lipolitic al glucagonului, (fig. III.16). Acțiunea sa lipolitică este potențată de teofilină și abolită de insulină (99), deși unii autori ajung la rezultate contradictorii (Fain, citat de 99).

La om, în condiții fiziologice, efectul lipolitic exercitat de glucagon este minim (54).

C. ACȚIUNEA GLUCAGONULUI ASUPRA LIPIDELOR SERICE ȘI ACTIVITĂȚII LPL

Administrarea parenterală de glucagon la om produce creșterea AGL plasmatici (104). Pozza și colab. (105) menționează același efect după infuzia glucagonului în artera brahială, demonstrînd marea sensibilitate a țesutului adipos uman la glucagon *in vivo*. Samols (106) ajunge la rezultate similare, după administrarea glucagonului la subiecți înfometați timp de trei zile (în felul acesta s-a redus mult efectul insulinotropic al glucagonului).

În afara efectului vizînd AGL, la om, glucagonul s-a dovedit a avea efect hipocolesterolemiant și hipolipemiant (108). Se încearcă explicarea acestui efect prin transferul lipidelor circulante din plasmă în trombocite. Încetarea efectului glucagonului este însoțită de întoarcerea lor în circulație (108). Efectul este cu atît mai paradoxal, cu cît s-a demonstrat inhibiția activității LPL în țesutul adipos, de către glucagon (109).

D. SECREŢIA DE GLUCAGON ŞI METABOLISMUL LIPIDIC

Variaţia secretorie cantitativă este dependentă de necesităţile energetice tisulare (94), corelativ cu hormonii gastroenterali în cadrul conceptului „axei enteroinsulare" (fig. III.19) (94—96). Apare deci logică raportarea permanentă a acţiunii globale a glucagonului asupra metabolismului lipidic la factorii de mai sus, cît şi la relaţia sa cu insulina (fig. III.15).

III.3.4. ROLUL CATECOLAMINELOR ÎN METABOLISMUL LIPIDIC ŞI LIPOPROTEINIC

Catecolaminele sînt principalii hormoni ergotropi din organismul uman (110). Efectele lor metabolice majore — glicogenoliza şi lipoliza — sînt redate în tabelul III.3. Adăugăm la aceasta inhibiţia secreţiei de insulină.

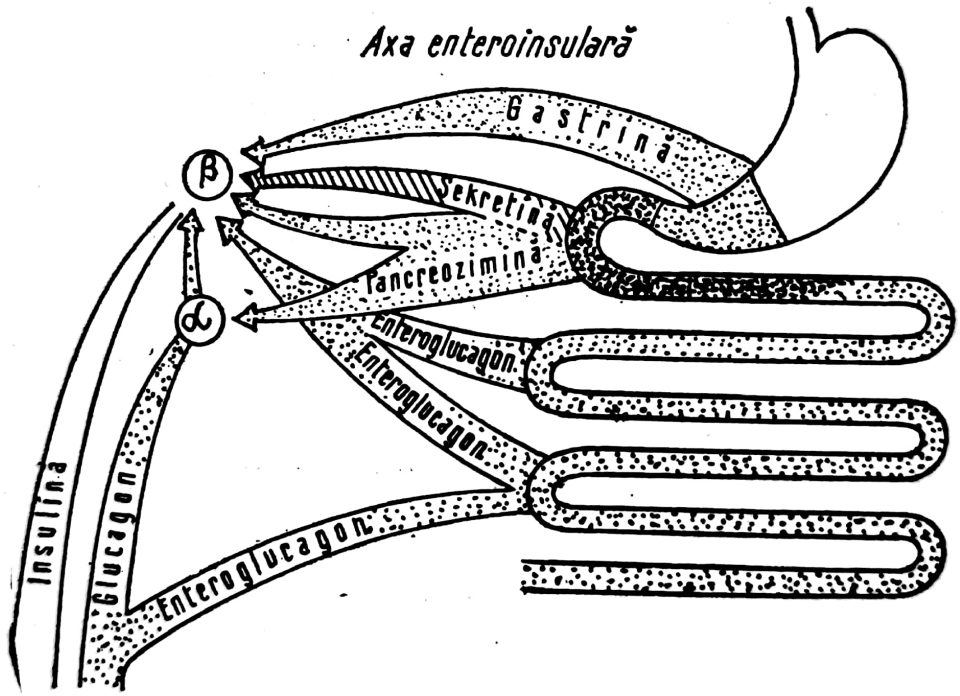


Fig. III.19. — **Axa entero-insulară, rolul hormonilor gastroenterali în secreţia de insulină şi glucagon (după Unger, 94).**

Mecanismul de acţiune al catecolaminelor are loc prin influenţarea cAMP intracelular : creşterea lui în ţesutul adipos, muşchi şi ficat, concomitent cu scăderea în celulele betainsulare.

În încercarea de a clasifica pe baze moderne catecolaminele, s-a stabilit următoarea corespondenţă între sistematizarea clasică a lui Ahlquist (1948) şi acţiunea lor asupra cAMP (110) :

— cele mai multe din efectele betaadrenergice se pare că sînt mediate de creşterea nivelului cAMP intracelular (glicogenoliza, lipoliza) ;

— efectele alfaadrenergice se datoresc scăderii cAMP intracelular (inhibiţia secreţiei de insulină).

A. INFLUENŢA CATECOLAMINELOR ASUPRA METABOLISMULUI LIPIDIC ŞI LIPOPROTEINIC ÎN FICAT

Acţiunea majoră a catecolaminelor în ficat nu se adresează metabolismului lipidic, ci metabolismului glucidic, prin stimularea glicogenolizei : catecolamină (efect beta) → receptor → adenilciclază → cAMP → proteinkinaze active → fosforilaza a-b → glicogenoliză.

În ficat, catecolaminele nu activează oxidarea glucozei (111). Recent, la şobolan s-a demonstrat că aceasta este chiar inhibată (112).

Efectele secundare ale catecolaminelor la nivelul ficatului sînt :

— stimularea cetogenezei (97) ;

— inhibiţia sintezei „de novo" a acizilor graşi (112) ;

— stimularea esterificării acizilor graşi şi formarea trigliceridelor ;

— creşterea producţiei hepatice de trigliceride (TG, VLDL), efect demonstrat recent la om în urma infuziei de noradrenalină administrată timp de 5 ore în ritm de 0,1 μg/minut/kilocorp (113). Efectul s-ar explica prin creşterea lipolizei, în special la nivelul ţesutului adipos şi creşterea turnoverului AGL.

B. INFLUENŢA CATECOLAMINELOR ASUPRA METABOLISMULUI LIPIDIC ŞI LIPOPROTEINIC ÎN ŢESUTUL ADIPOS

Stimularea hidrolizei trigliceridelor din ţesutul adipos reprezintă acţiunea majoră a catecolaminelor la acest nivel (110). În ultimii 10 ani, numeroase grupuri de cercetători au abordat această problemă, iniţial la animale, apoi la om (114—124). Nu de mult s-a comunicat izolarea şi purificarea trigliceridlipazei-hormonosensibile din ţesutul adipos uman (71), dependentă de proteinkinaze, ATP şi Mg. Catecolaminele stimulează adenilciclaza, cresc cAMP intracelular care, ulterior activînd proteinkinazele, transformă lipaza hormonosensibilă din forma inactivă în forma activă (71) (fig. III.20). În acelaşi timp, se constată că cAMP nu influenţează activitatea LPL, infirmîndu-se părerea lui Robinson (57) cu privire la rolul cAMP în sinteza enzimei.

Recent (124) s-a demonstrat *in vivo* la om reglarea adrenergică a lipolizei de la nivelul ţesutului adipos. Acelaşi efect *in vitro* a fost demonstrat încă din anul 1964 de către Bjőrntorp, pentru ca ulterior, alte studii să-l confirme şi să-l completeze (62, 66, 126, 128).

În prezent, se consideră acest proces ca extrem de complex, dependent de volumul adipocitar, starea de nutriţie, statusul celorlalţi hormoni lipolitici sau antilipolitici şi electroliţi.

S-a subliniat rolul volumului adipocitar în procesele metabolice intraadipocitare. Carlson şi colab. (127) apoi Ostman (129), ajung la concluzia că datorită lipolizei bazale mai mari din adipocitele volumi-

noase, efectul lipolitic stimulator al catecolaminelor este mai redus în comparaţie cu adipocitele mici. Stimularea prin teofilină, în schimb, nu evidenţiază modificări ale lipolizei în funcţie de volum (62).

În studii pe culturi de ţesut adipos uman, se evidenţiază un efect stimulator al noradrenalinei, mai accentuat în cazurile preincubate în

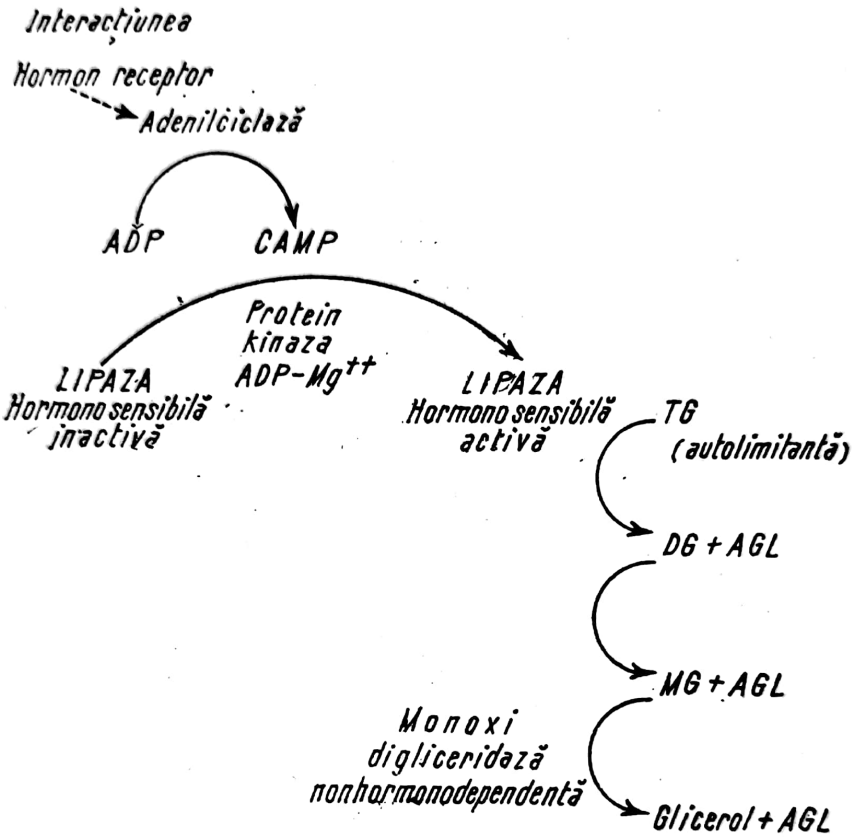


Fig. III.20. — Activarea lipazei hormono-sensibile în ţesutul adipos (după Khoo şi colab., 71).

glucoză + insulină (mimînd *in vitro* diferite stări nutriţionale întîlnite *in vivo*).

Comparativ cu ceilalţi hormoni lipolitici, la om, catecolaminele au efectul lipolitic cel mai marcat, fiind net potenţat de adaosul de teofilină care creşte nivelul cAMP prin inhibiţia fosfodiesterazei (57, 245). Prostaglandina E_1 *in vivo* nu reuşeşte să influenţeze lipoliza stimulată de catecolamine (130). La om, datorită prezenţei alfa-receptorilor adrenergici (55), blocanţii betaadrenergici reduc lipoliza indusă de catecolamine (244). Rolul fiziologic al alfa-receptorilor adrenergici în reglarea lipolizei nu se cunoaşte (62, 110).

Efectul lipolitic-stimulator al catecolaminelor trebuie corelat cu efluxul potasiului şi calciului (69, 70), precum şi cu creşterea fluxului sanguin în ţesutul adipos (131).

Un efect mai puţin elucidat al catecolaminelor la nivelul ţesutului adipos este cel de stimulare al sintezei de fosfolipide. S-a demonstrat (133) *in vitro*, pe ţesut adipos de şobolan, că adrenalina stimu-

lează încorporarea P^{32} în fosfolipide. Efectul este mai marcat asupra fosfatidilcolinei fiind dependent de concentrația hormonului și de timpul de incubație. Acțiunea blocanților adrenergici, asupra acestui mecanism, nu poate fi deocamdată corelată cu rolul fiziologic al receptorilor alfa și beta în sinteza de fosfolipide.

C. INFLUENȚA CATECOLAMINELOR ASUPRA ACTIVITĂȚII LPL

Wing și colab. (132), apoi Robinson (57) demonstrează inhibiția activității LPL în țesutul adipos la șobolani. Nestel și colab. (109), evidențiază inhibiția enzimei prin teofilină. Se conchide că există un marcat antagonism între LPL și lipaza hormonosensibilă din țesutul adipos.

D. SECREȚIA DE CATECOLAMINE ȘI METABOLISMUL LIPIDIC

Inducerea pe cale hormonală și nervoasă a secreției de catecolamine trebuie corelată în mod obligatoriu cu finalitatea acțiunii lor asupra metabolismului lipidic, în permanentă coordonare cu necesitățile energetice.

III.3.5. ROLUL GLUCOCORTICOIZILOR ÎN METABOLISMUL LIPIDIC ȘI LIPOPROTEINIC

Glucocorticoizii au un efect minor asupra metabolismului lipidic. În cadrul reglării metabolismului lipidic și lipoproteinic în circumstanțe fiziologice, glucocorticoizii nu au rol egal ca importanță comparativ cu insulina, catecolaminele sau glucagonul. Majoritatea datelor asupra acțiunii glucocorticoizilor asupra metabolismului lipidic și lipoproteinic, provin din experimente pe animale sau din patologia umană. Din acest motiv, extrapolarea lor la un subiect sănătos permite numai concluzii preliminare (119, 134—138).

Acțiunile metabolice generale ale glucocorticoizilor, care au implicații sau tangențe cu metabolismul lipidic, sînt redate în tabelul III.6. și în figura III.21.

Tabelul III.6.

Principalele efecte metabolice exercitate de glucocorticoizi „in vivo" (după Jeanrenaud — 134)

— Creșterea glucogenezei și gluconeogenezei.
— Creșterea eliberării glucozei din ficat.
— Inhibiția utilizării periferice a glucozei (prin inhibiția oxidării sale).
— Inhibiția încorporării aminoacizilor în proteine.
— Stimularea lipolizei la nivelul țesutului adipos.
— Creșterea Na^+ și CO_3H^- în lichidul extracelular.
— Scăderea K^+ și Cl^- în lichidul extracelular.
— Efect permisiv asupra răspunsului unor celule la stimuli adenergici.

Scanned with OKEN Scanner

Spre deosebire de insulină, catecolamine şi glucagon, efectul glucocorticoizilor nu este legat de membrană, iar implicarea cAMP intracelular ca intermediar nu este întrutotul elucidată (135).

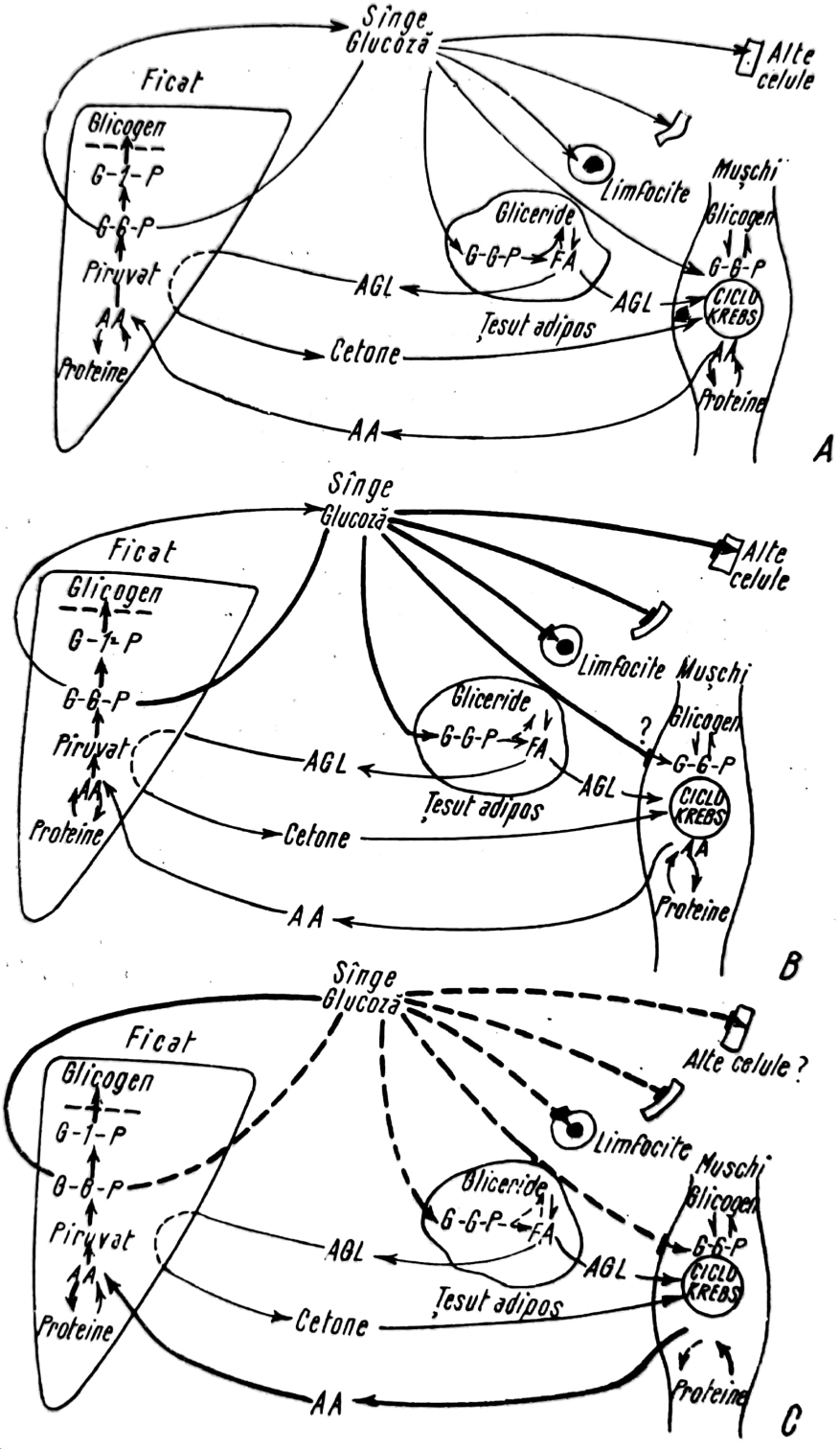


Fig. III.21. — Acţiunile metabolice ale hormonilor glucocorticoizi ; A = activitatea bazală a ţesuturilor ; B = acţiunea „de tip acut" a glucocorticoizilor asupra glicemiei ; C = acţiunea de „tip întîrziat" a glucocorticoizilor asupra glicemiei (după Jeanrenaud, 134).

A. INFLUENŢA GLUCOCORTICOIZILOR ASUPRA METABOLISMULUI LIPIDIC ŞI LIPOPROTEINIC ÎN ŢESUTUL ADIPOS

În cadrul metabolismului lipidic, principala acţiune exercitată de glucocorticoizi este cea de stimulare a lipolizei (119, 124). Efectul se exercită la cel puţin 2—3 ore de la administrare, motiv pentru care, alături de STH, glucocorticoizii au fost încadraţi în grupa hormonilor lipolitici cu acţiune întîrziată (119). Antagonizarea efectului lipolitic se face prin insulină (135). Comparativ cu ceilalţi hormoni lipolitici (catecolaminele, glucagonul ACTH-ul), glucocorticoizii au un efect mai redus, dar prezenţa glucagonului le potenţează efectul. Efectul lipolitic al glucocorticoizilor nu este condiţionat de electroliţi.

La om, injecţia i.v. de cortizol (139) produce o creştere a AGL.

Mecanismul prin care se stimulează lipoliza intraadipocitară de către glucocorticoizi este total diferit de mecanismul invocat în cazul catecolaminelor, glucagonului sau ACTH-ului. Se presupune că inhibiţia oxidării glucozei reduce disponibilitatea de alfa-glicerofosfat necesar reesterificării acizilor graşi în vederea gliceridosintezei. Ca efect indirect, se produce lipoliza (119, 134, 138, 137). Se presupune că glicocorticoizii, asemănător STH-ului, induc sinteza unor enzime, care ar creşte nivelul cAMP intracelular (135), sau ar activa adenilciclaza (136). Timpul de latenţă al efectului lor ar echivala cu acţiunea lor de inducere enzimatică. Experienţe cu inhibitori ai sintezei proteinelor, pe ţesut adipos de şobolan, confirmă această ipoteză (135).

B. INFLUENŢA GLUCOCORTICOIZILOR ASUPRA METABOLISMULUI LIPIDIC ŞI LIPOPROTEINIC ÎN FICAT

La nivelul ficatului, acţiunea majoră a glucocorticoizilor este exercitată asupra enzimelor metabolismului glucidic stimulînd glucogeneza şi calea GNG (134, 137).

Se presupune că în stările hiperlipemiante, implicarea hipercorticismului s-ar face prin calea insulină (136), sau prin stimularea GNG şi deci a precursorilor nelipidici ai acizilor graşi (Weinges, citat de 141).

Hiperlipoliza produsă de glucocorticoizi poate fi cauza hipercetogenezei hepatice, aşa cum s-a demonstrat în experiment pe animale (134), deşi se afirmă că cetonemia indusă de foame la om este redusă prin tratament cu cortizon (Kinsell, citat de 141).

C. INFLUENŢA GLUCOCORTICOIZILOR ASUPRA ACTIVITĂŢII LPL

Deşi în hiperlipoproteinemia indusă de steroizi activitatea LPL este deprimată (141), nu se întrevede un rol deosebit jucat de glucocorticoizi în reglarea activităţii enzimei, în diferite stări fiziologice.

Experienţe efectuate pe ficat izolat şi perfuzat de şobolan, în variate circumstanţe (142), au demonstrat efecte care, parţial, sînt în contradicţie cu cele expuse anterior : la animalul adrenalectomizat, secreţia de TG-VLDL şi glucoză scade în timp ce cetonemia creşte. Cap-

tarea AGL de către ficat nu este influenţată în această situaţie. Tratamentul cu cortizon restabileşte echilibrul metabolic în sensul că adaosul de cortizon, în lichidul de perfuzie al animalului integru anatomic, stimulează secreţia de trigliceride şi glucoză de către ficat.

Se presupune că acest efect al glucocorticoizilor s-ar datora depresiei lipolizei trigliceridelor hepatice, creşterii aportului de precursori ai trigliceridelor şi VLDL în ficat (aminoacizi, glucoză prin GNG), cît şi favorizării reesterificării acizilor graşi cu alfa-glicerofosfat (142). Din aceste puncte de vedere, acţiunile glucocorticoizilor în ficat ar fi contrare celor de la nivelul ţesutului adipos.

III.3.6. ROLUL ACTH-ULUI ÎN METABOLISMUL LIPIDIC ŞI LIPOPROTEINIC

ACTH acţionează asupra metabolismului lipidic, fie în calitatea sa de hormon trop pe hormoni steroizi suprarenali, fie ca hormon efector, graţie particularităţilor structurii moleculei sale (143, 144). Cortexul suprarenal şi ţesutul adipos sînt din acest punct de vedere organele ţintă (tabelul III.7). Mecanismul de acţiune este legat de sistemul adenilciclază-cAMP (143).

Tabelul III.7

Efectele ACTH-ului asupra metabolismului lipidic în cortexul suprarenal şi ţesutul adipos (după Body şi Trzecika — 145)

Cortex suprarenal	Ţesut adipos
— Creşte 3′, 5′ ciclic AMP — Creşte activitatea proteinkinazelor — Activează colesterol-esteraza — Creşte nivelul colesterolului liber	— Creşte 3′, 5′-ciclic AMP — Creşte activitatea protein-kinazelor — Creşte activitatea triglicerid-lipazelor — Creşte concentraţia glicerolului şi a AGL

A. INFLUENŢA ACTH-ULUI ASUPRA METABOLISMULUI LIPIDIC ÎN CORTEXUL SUPRARENAL

În figura III.22 este redată acţiunea ACTH-ului asupra metabolismului colesterolului în cortexul suprarenal şi iniţierea sintezei hormonilor steroizi. Este greu de presupus că în circumstanţe fiziologice, această acţiune a hormonilor să influenţeze nivelul colesterolemiei, cu atît mai mult, cu cît steroidogeneza declanşată de ACTH are ca punct de plecare colesterolul sintetizat ad-hoc (147).

B. INFLUENŢA ACTH-ULUI ASUPRA METABOLISMULUI LIPIDIC ŞI LIPOPROTEINIC ÎN ŢESUTUL ADIPOS

ACTH-ul este încadrat în grupul hormonilor lipolitici. Stimularea lipolizei se face direct de către hormoni (nu prin intermediul glucocorticoizilor), activînd adenilciclaza şi creşterea cantităţii cAMP intra-

Scanned with OKEN Scanner

adipocitar (120—123, 147, 149). Efectul este potențat de teofilină și antagonizat de insulină și prostaglandina E_1 (120).

Un alt efect al ACTH-ului, demonstrat în țesutul adipos, este acela de inhibiție a activității LPL (58).

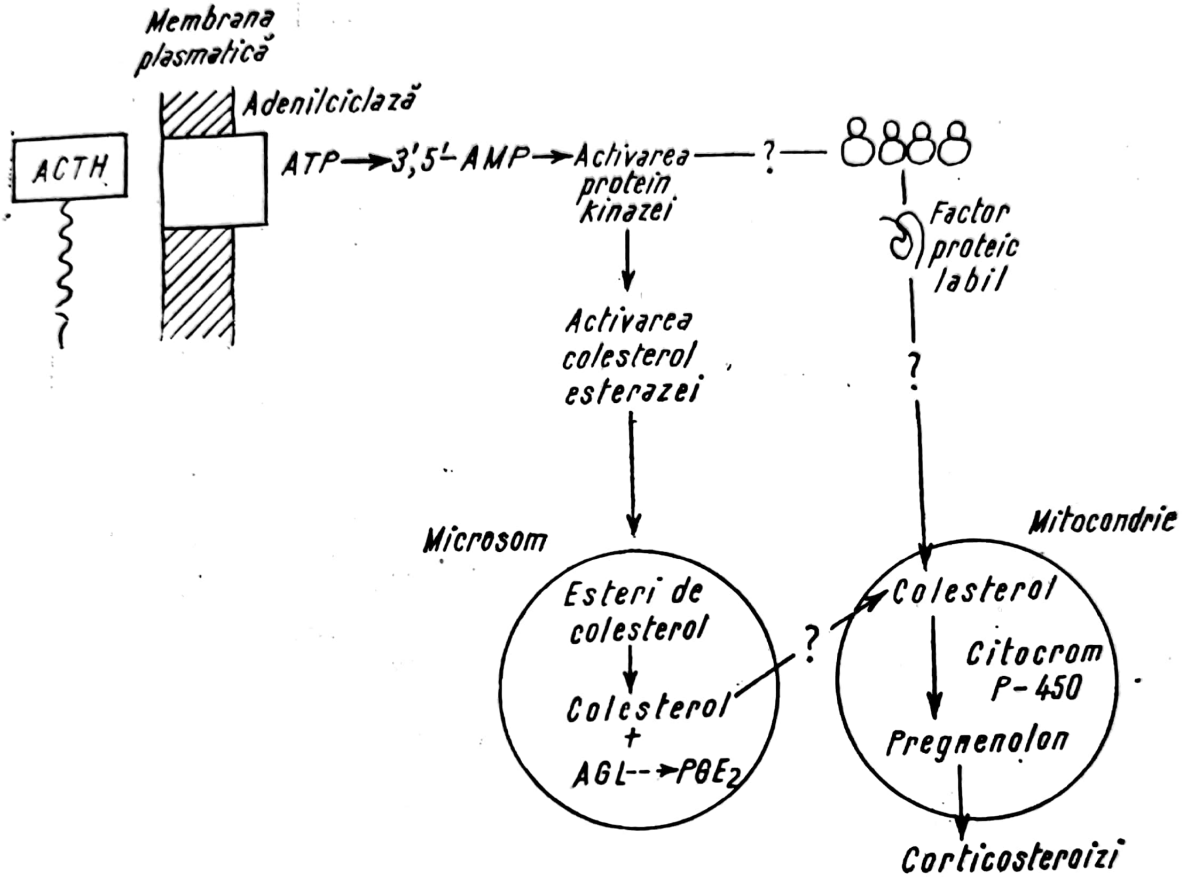


Fig. III.22. — Ipoteza cu privire la acțiunea ACTH-ului la nivelul cortexului suprarenal; activarea colesterolesterazei este consecința creșterii cAMP intracelular calea adenilciclază.

În microsomi enzima scindează esterii de colesterol; colesterolul liber este transferat în mitocondrie unde urmează căile steroidogenezei; AGL, dacă au o anumită structură, se pot transforma în prostaglandine (PGE_2) (după Boyd și Trzeciak, 145).

Hiperlipemia observată la animal după administrare de ACTH se explică prin aceste acțiuni complexe ale hormonului.

Acțiunea glucocorticoizilor și a ACTH-ului asupra metabolismului lipidic trebuie privită în contextul reglării complexe a secreției și activității lor (fig. III.23).

III.3.7. ROLUL STH-ULUI ÎN METABOLISMUL LIPIDIC ȘI LIPOPROTEINIC

În ultimii ani s-au adus precizări importante vizînd structura și mecanismele de acțiune ale hormonului. Acțiunea sa lipolitică este cunoscută de mult (119, 151, 154), dar prin diferențierea cronologică a efectelor sale și, mai ales, în urma izolării celor doi polipeptizi compo-

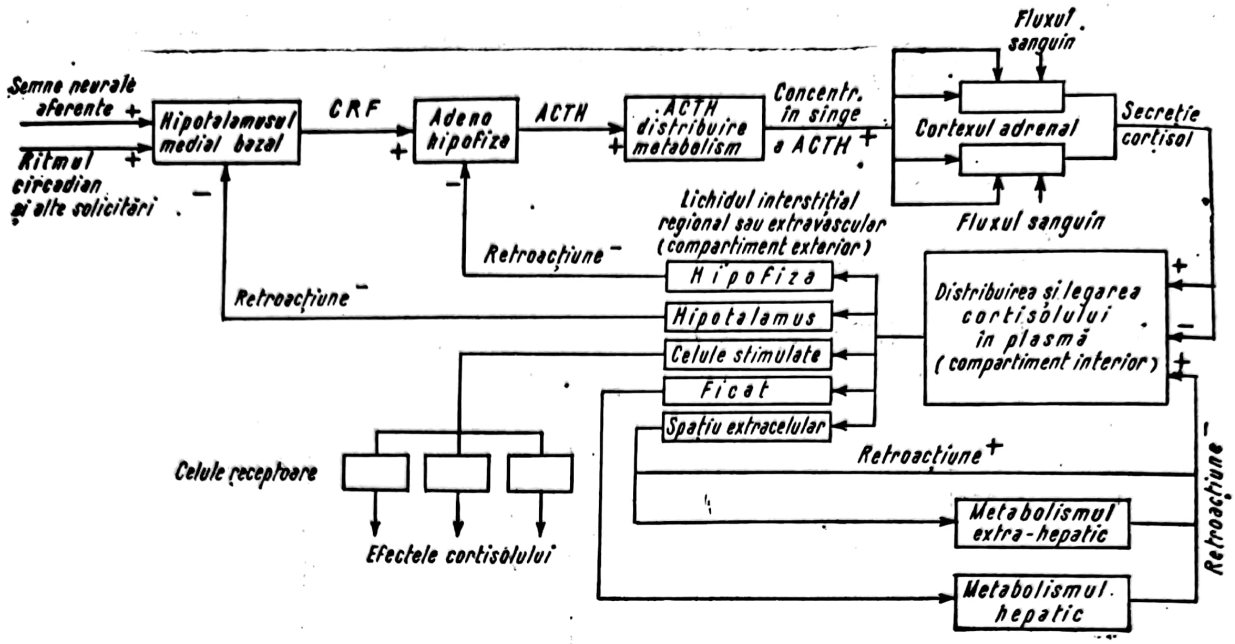


Fig. III.23. — Mecanismul de reglare a glucocorticoizilor (după Baciu, 14).

nenţi ai moleculei s-au clarificat unele aspecte controversate ale rolului STH în organism (acţiunea diabetogenă şi cea antidiabetogenă) (150, 247).

În tabelul III.8 sînt redate principalele acţiuni ale celor două polipeptide componente ale STH : somantina (InG = inhibitory GH) şi cataglykina (AcG = accelerating GH). Este vorba de acţiunea tip „acut" studiată la şobolani în principalele ţesuturi care decid nivelul lipidelor sanguine (muşchi, ficat, ţesut adipos). Somantina este polipeptidul lipolitic care inhibă în acelaşi timp utilizarea glucozei în ţesuturi, oxidarea

Tabelul III.8

Efectele de tip „acut" ale somantinei (InG) şi cataglikinei (AcG), la şobolani, pe diferite linii metabolice, în muşchi, ficat şi ţesut adipos (după Bornstein — 150)

Linia metabolică	Ţesutul	Somantina (InG)	Cataglikina (AcG)
Captarea glucozei	muşchi	inhibiţie	accelerează
Oxidarea glucozei	toate ţesuturile	inhibiţie	accelerează
Oxidarea piruvatului	muşchi, ficat	inhibiţie	accelerează
Sinteza acizilor graşi	ficat, ţesut adipos	inhibiţie	accelerează
Lipoliză	ţesut adipos	accelerează	inhibiţie

piruvatului şi sinteza acizilor graşi (peptid antiinsulinic, diabetogen, 150). Cataglykina (peptid insulin-like, 150) inhibă lipoliza facilitînd utilizarea glucozei în ţesuturi, accelerează sinteza „de novo" a acizilor graşi din ficat şi ţesut adipos. Localizarea la nivelul molecular a acţiunii STH este redată în tabelul III.9. Se observă efectul inhibitor exercitat de somantină asupra acetil-CoA-carboxilazei în sinteza acizilor graşi plecîndu-se fie de la acetat, fie de la acetil CoA. Cataglykina exercită, la acest nivel, efecte inverse. Se întrevăd efectele acestor acţiuni :

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul III.9

Localizarea şi modul de acţiune al somatinei şi cataglikinei (după Bornstein — 150)

Linia metabolică afectată	Somantina	Cataglikina
Gliceraldehid-3-fosfat dehidrogenaza (muşchi)	inhibiţie	efect invers
α-glicerofosfat dehidrogenază (muşchi)	inhibiţie	efect invers
Acetil-Co-Carboxilaza Homogenat de ţesut hepatic sau adipos		
Substrat : acetat	inhibiţie	efect invers
acetil—CoA	inhibiţie	efect invers
nalonil—CoA	fără efect	fără efect
Piruvat dehidrogenaza mitocondria hepatică		
piruvat $C^{14} \rightarrow C^{14}O_2$	inhibiţie	efect invers
acetat $C^{14} \rightarrow C^{14}O_2$	fără efect	fără efect

— lipoliza de la nivelul ţesutului adipos prin stimulare exercitată de fructozo-1,6-difosfat (155), sau prin alte mecanisme ;

— stimularea GNG hepatice, mai ales din lactat, consecinţă a inhibiţiei piruvat-dehidrogenazei, acetil-CoA-carboxilazei şi inhibiţiei ciclului Krebs, cauzată de fosfofructokinaza ;

— stimularea cetogenezei determinată de hiperaportul hepatic de AGL şi inhibiţia oxidării lor complete (150).

Aceste efecte ar explica dar pe alt plan cantitativ, acţiunea diabetogenă şi hiperlipemiantă a somantinei (150, 157).

Experimente anterioare, efectuate pe animale (119, 135, 136) au demonstrat efectul bifazic asupra AGL plasmatici, obţinut în urma administrării de STH ; scăderea iniţială este urmată la 4 ore de creşterea concentraţiei lor. Primul efect s-ar datora stimulării secreţiei de insulină, de către STH, în timp ce hiperlipoliza este consecutivă acţiunii hormonului asupra trigliceridlipazei intraadipocitare. Timpul de latenţă necesar acţiunii sale lipolitice a determinat încadrarea sa alături de glucocorticoizi, în grupul hormonilor lipolitici cu acţiune întîrziată (119, 135).

STH potenţează acţiunea lipolitică a glucocorticoizilor la rîndul său fiind potenţată şi de teofilină (136). Insulina şi stimularea alfa-receptorilor adrenergici adipocitari antagonizează efectul lipolitic al STH (136). Inhibitorii RNA şi ai proteinosintezei de tipul puromicinei, dactinomicinei (135, 136) suprimă efectul lipolitic al hormonului.

Aceste două fapte — timpul de latenţă necesar pentru acţiunea lipolitică şi suprimarea acesteia de către inhibitorii proteosintezei RNA — ne obligă ca, în interpretarea mecanismelor de acţiune a STH, să situăm ca mecanism „princeps", rolul său în sinteza proteică (134, 156). Stimularea acesteia ar creşte cAMP intraadipocitar (134), de unde decurg consecinţele cunoscute. Alţi autori (120) consideră că STH, alături de glucocorticoizi, ar acţiona în stimularea adenilciclazei.

Scanned with OKEN Scanner

Încercînd o sinteză asupra mecanismelor de acţiune ale STH, se poate afirma că în experiment pe animale, faza acută a experimentului se traduce prin efecte de tip „insulin-like", în timp ce faza cronică se caracterizează prin efecte de tip antiinsulinic. Aceasta s-ar explica prin inducerea secreţiei de insulină de către STH, cît şi prin existenţa celor două polipeptide diferite net ca acţiune.

La om, aşa cum s-a afirmat anterior, răspunsul lipolitic al ţesutului adipos la STH este foarte redus. Cercetările lui Finneberg şi Merimeé (158) au demonstrat creşterea lipolizei numai la 2 ore după administrarea de doze mari de STH. Friedman şi colab. (246) presupune ca foarte important rolul reglator al STH-ului asupra colesterolului seric. Interpretarea acţiunii STH-ului asupra metabolismului lipidic şi lipoproteinic trebuie raportată la mecanismele reglatoare ale secreţiei sale în diferite circumstanţe fiziologice sau patologice (fig. III.24). Sînt necesare unele precizări :

— S-a demonstrat inhibiţia secreţiei STH-ului de către hiper AGL-mie şi hiper TG, nu numai în condiţii bazale dar chiar şi în cazul stimulării anterioare prin arginină sau glucagon (251) ;

— Hipercolesterolemia, se pare că nu influenţează secreţia de STH (252), deşi unii autori (Friedman — cit. 252), evidenţiază un răspuns secretor redus al STH-ului după arginină, la bolnavii cu hipercolesterolemie ;

— Referitor la somatostatină, factorul inhibitor al secreţiei de STH de origine hipotalamică (notat în fig. III.24 prin GIF) trebuie menţionat

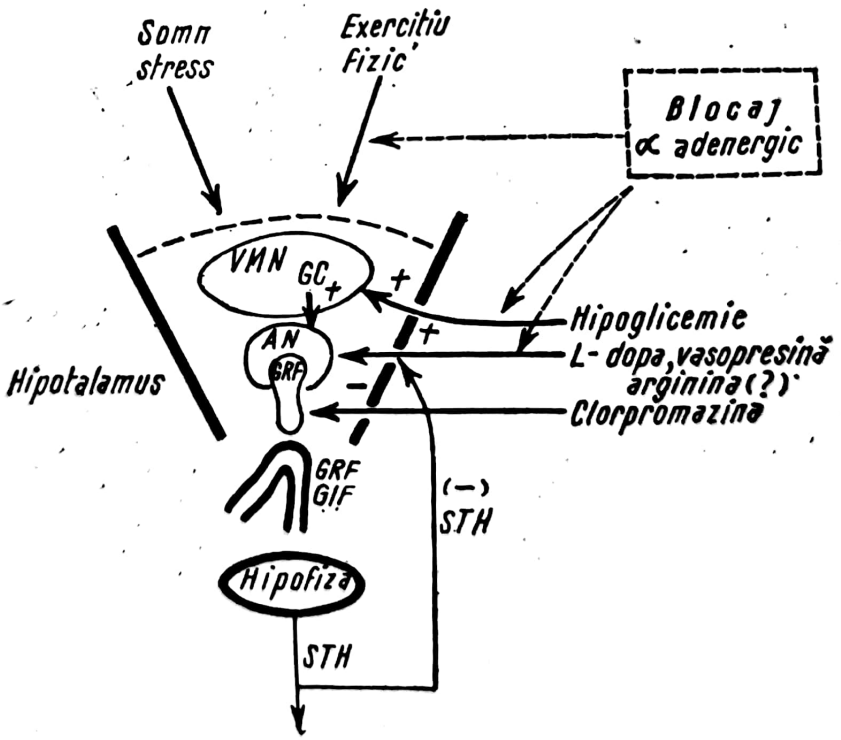


Fig. III.24. — Ipoteză asupra mecanismelor de reglare a secreţiei de hormon somatotrop (STH) ;
VMN = nucleul ventro-median ; GC = glucoreceptori ; AN = nucleul arcuat ; GRF = factor secretant de STH ; GIF = factor inhibant al STH (după Martin, 159).

Scanned with OKEN Scanner

faptul că pînă în prezent nu i se pot atribui intervenţii directe în metabolismul lipidic şi lipoproteinic (253). Totuşi, datorită acţiunii sale inhibitorii asupra secreţiei hormonilor anterohipofizari, insulinei şi glucagonului, ar fi posibil, ca, indirect, metabolismul lipidic şi lipoproteinic să fie influenţat. De fapt, în cazul lipolizei acest lucru a fost deja evidenţiat (254).

III.3.8. ROLUL HORMONILOR TIROIDIENI ÎN METABOLISMUL LIPIDIC ŞI LIPOPROTEINIC

Efectul hormonilor tiroidieni asupra sintezei şi degradării lipidelor este cunoscut de foarte mulţi ani (160), fiind în strînsă legătură cu acţiunea lor de la nivelul mitocondriilor, unde controlează transformarea energiei eliberate din oxidare, în forme utilizabile de către celule (161).

Majoritatea datelor vizînd această problemă provin din cercetări experimentale sau din patologia tiroidiană umană. Se conchide că în cadrul metabolismului lipidic şi lipoproteinic, hormonii tiroidieni acţionează predominant asupra lipolizei de la nivelul ţesutului adipos şi a metabolismului colesterolului şi, într-un grad mai redus, influenţează lipogeneza, oxidarea acizilor graşi, lipidelor şi lipoproteinelor serice. Nu se cunoaşte cu exactitate rolul hormonilor tiroidieni în reglarea metabolismului lipidic la om, în circumstanţe fiziologice.

A. INFLUENŢA HORMONILOR TIROIDIENI ASUPRA METABOLISMULUI ACIZILOR GRAŞI

Hormonii tiroidieni fac parte din grupul hormonilor lipolitici cu acţiune rapidă (119), ceea ce dovedeşte că mecanismul lor de acţiune este calea adenilciclază-cAMP. Într-adevăr, Butcher presupune activarea adenilciclazei prin tiroxină (120). Se pare că aceasta nu este unica posibilitate de acţiune a hormonilor tiroidieni, deoarece la om Solomon evidenţiază inhibiţia fosfodiesterazei de către tiroxină (57). Oricare ar fi mecanismul de acţiune, efectul lipolitic este mai redus decît cel al catecolaminelor (120).

Hormonii tiroidieni controlează direct oxidarea mitocondrială a acizilor graşi prin controlul producţiei de ATP necesar activării lor, ca etapă preliminară a betaoxidării (161). Sinteza acizilor graşi este depresionată de către hormonii tiroidieni prin controlul asupra ATP, disponibilităţii de acetil-CoA şi conversiunii acetatului spre acizi graşi (161).

B. INFLUENŢA HORMONILOR ŢIROIDIENI ASUPRA METABOLISMULUI COLESTEROLULUI

Hormonii tiroidieni stimulează atît sinteza, cît şi degradarea colesterolului (162). Deoarece majoritatea datelor la om provin din studiul cazurilor diagnosticate ca distiroidie, detalii vor fi prezentate în capitolele VI şi XI.

Scanned with OKEN Scanner

III.3.9. INFLUENŢA HORMONULUI TIREOTROP ASUPRA METABOLISMULUI LIPIDIC ŞI LIPOPROTEIC

TSH-ul are două acţiuni principale în cadrul metabolismului lipidic : stimularea lipolizei de la nivelul ţesutului adipos şi inhibiţia activităţii LPL.

Mecanismul de acţiune este direct, excluzînd hormonul tiroidian.

Stimularea lipolizei se face prin intermediul activării adenilciclazei şi creşterii cAMP intraadipocitar (117, 123). Lipoliza produsă pe această cale la şobolan este din punct de vedere cantitativ, mai redusă decît cea obţinută în cazul stimulării cu catecolamine, ACTH, secretină, glucagon (162). Activitatea TSH nu necesită prezenţa calciului ca în cazul ACTH (162). Potenţarea efectului lipolitic al TSH se face de către catecolamine şi ACTH, iar antagonizarea apare în cadrul acţiunii insulinei şi PGE_1 (120).

Inhibiţia activităţii LPL la nivelul ţesutului adipos (58), dovedită experimental, este în perfectă concordanţă cu funcţionalitatea dualistă a celor două sisteme enzimatice lipolitice.

Se comunică şi activitatea stimulatoare a TSH asupra oxidării acizilor graşi şi inhibitoare asupra lipogenezei (160).

Rolul TSH în reglarea metabolismului lipidic, în diferite circumstanţe fiziologice, nu se cunoaşte ; dar, oricum, în interpretarea sa, alături de hormonii tiroidieni, trebuie avut în vedere mecanismul complex al reglării secreţiilor (fig. III.25).

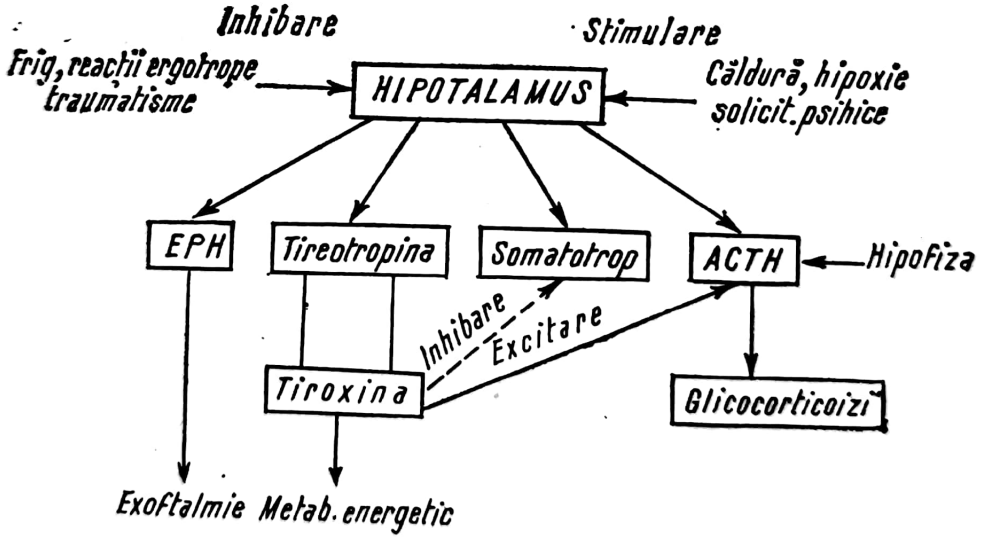


Fig. III.25. — Reglarea formării şi secreţiei hormonilor tiroidieni, relaţia lor cu alţi hormoni (după Baciu — 144).

III.3.10. ROLUL HORMONILOR SEXUALI ÎN METABOLISMUL LIPIDIC ŞI LIPOPROTEINIC

Datele asupra rolului hormonilor sexuali în metabolismul lipidic şi lipoproteinic provin din : observaţia comportamentului lipidelor şi lipoproteinelor serice în sarcină, ciclul menstrual, decadele de vîrstă la fe-

Scanned with OKEN Scanner

meie, tratamentul cu anticoncepționale, patologia umană disgonadală și din experimente pe animale.

Aceste variate metode de studiu nu numai că nu converg spre concluzii similare, dar nu reușesc să descifreze detaliile în acțiunea hormonilor sexuali asupra metabolismului lipidic și lipoproteinic. Acest lucru s-ar putea explica prin diferențierea mecanismului lor de acțiune în funcție de starea fiziologică a organismului (etapa dezvoltării sexuale, fazele ciclului menstrual, sarcină) de interdependența și influențarea lor de către alți hormoni.

Date complete asupra acestor aspecte la om lipsesc ; motiv, pentru care, prezentarea noastră în continuare va fi orientată cu precădere asupra influențării lipidelor și lipoproteinelor serice de către hormonii sexuali.

Principalele acțiuni ale hormonilor estrogeni asupra lipidelor și lipoproteinelor serice sînt (160, 229) :

— scad concentrația LDL concomitent cu creșterea VLDL și HDL, avînd drept consecință hipocolesterolemia, hipertrigliceridemia și hiperfosfolipidemia ;

— cresc mobilizarea AGL ;

— au acțiune lipotropă, împiedicînd geneza steatozei hepatice la cîinii supuși dietei hiperlipidice ;

— reduc activitatea LPL ;

— cresc secreția de STH, care induce hiperinsulinismul, crescînd deci sinteza și secreția TG-VLDL în ficat.

Efectul hormonilor progestativi pe această linie metabolică nu este încă elucidat (229). Ar fi probabilă interferența lor cu alți hormoni proteici, cît și cu scăderea utilizării tisulare a glucozei, antrenînd secundar și modificarea metabolismului lipidic (229). După Voigt și Lindenmeyer (229), aceasta ar consta din hiperlipoliză și hiper AGL-mie, în timp ce Alessandrescu și colab. (231) susțin rolul progestativilor în creșterea depozitelor lipidice.

Datele asupra relației dintre hormonii androgeni și metabolismul lipidic sînt extrem de controversate. Se afirmă existența efectului lor hipocolesterolemiant (160), contrar unor date mai recente care demonstrează creșterea concentrației LDL în urma terapiei cu hormoni androgeni (229). Ar fi certă numai acțiunea lor adipokinetică (creșterea lipolizei în țesutul adipos cu hiper AGL-mie consecutivă).

În cursul ciclului menstrual, se remarcă creșterea AGL-miei și a glicerolului seric, datorate hiperprogesteronemiei din faza luteinică (229).

Efectul sarcinei asupra metabolismului lipido-lipoproteinic și al nivelului lor seric este însă mult mai complex, datorită în primul rînd modificărilor hormonale profunde, care antrenează concomitent și modificările altor linii metabolice. Funcția endocrină temporară a placentei este, de asemenea, incriminată în geneza acestor modificări. Băltescu Dejica și colab. (230) demonstrează creșterea progresivă a colesterolului seric total și lipemiei, începînd din trimestrul al II-lea de sarcină, atingînd un nivel maxim la naștere, după care scad lent. Fenomenul nu este influențat de greutatea gravidelor sau de starea de disgravidie. Trigli-

Scanned with OKEN Scanner

ceridemia, de asemenea, creşte progresiv, începînd cu săptămîna a 4-a de sarcină. AGL-mia creşte iniţial paralel cu trigliceridele serice, dar ulterior acad. Kalkoff şi colab. (231) evidenţiază creşterea sintezei hepatice a trigliceridelor în sarcină. Cea mai plauzibilă explicaţie a acestor modificări se manifestă prin noul „status" endocrin creat : hiperinsulinism şi rezistenţă insulinică, creşterea gonadotrofinelor, STH-ului, TSH-ului şi ACTH-ului pînă în săptămîna a 16-a de sarcină, care, la rîndul lor, induc hipersecreţie de estrogeni, progesteron, hormoni tiroidieni şi glucocorticoizi (229). Paralel cu modificările lipidice are loc şi scăderea toleranţei la hidraţi de carbon, tulburări care patogenetic sînt intricate (229—231).

Concomitent cu modificările lipidelor şi lipoproteinelor plasmatice, în sarcină are loc şi acumularea de lipide tisulare apreciate la o valoare medie de 3,5 kg (231). Efectul s-ar datora hiperprogesterolemiei care, în ultima perioadă a sarcinei, se ameliorează paralel cu creşterea estriolului şi reducerea depozitelor lipidice. Hiperestrogenia din această perioadă este de fapt o necesitate energetică fetală aflată sub control fetal. Estriolul în exces mobilizează lipidele din ţesutul adipos matern în scopuri energogene fetale (231).

Influenţa hormonilor sexuali asupra metabolismului lipidic este dovedită şi de către comportamentul lipidelor şi lipoproteinelor serice în funcţie de vîrstă şi sex : la bărbat, concentraţia lor creşte progresiv cu vîrsta pînă în decada a 7-a de viaţă, în timp ce la femeie, fenomenul este remarcat numai în perioada postmenopauză (229).

III.3.11. ROLUL PROSTAGLANDINELOR ÎN METABOLISMUL LIPIDIC ŞI LIPOPROTEINIC

Dintre prostaglandinele izolate pînă în prezent, produsul PGE_1, conform nomenclaturii lui Bergström din anul 1957 (163), are acţiunile cele mai pregnante, vizînd lipoliza de la nivelul ţesutului adipos.

Numeroase cercetări efectuate la om sau la cîine *in vitro* (126, 127), evidenţiază efectele inhibante ale PGE_1 asupra lipolizei bazale, sau a celei stimulate prin catecolamine.

În ciuda acestor fapte, la om *in vivo*, după perfuzia de PGE_1 în doze crescînde se produce în cele mai multe cazuri o creştere a AGL plasmatici, sugerînd deci o hiperlipoliză (164). În acelaşi sens, se comunică faptul că la om, perfuzia de PGE_1 nu reuşeşte să suprime efectul lipolitic al catecolaminelor perfuzate concomitent.

Diferenţa dintre efectul prostaglandinic *in vitro* şi *in vivo* poate fi datorată pe de o parte, metabolizării pulmonare a PGE_1 iar, pe de altă parte, stimulării sistemului nervos simpatic (164).

Mecanismul acţiunii PGE_1 asupra lipolizei adipocitare a fost explicat de Butcher (120), prin interferenţa cu cAMP, în timp ce Westermann şi Stock atribuie PGE_1 efecte asupra adenilciclazei (180). Datorită diferenţelor dintre efectul PGE_1 asupra ţesutului adipos *in vitro* şi *in vivo*, se pare că acţiunea asupra adenilciclazei şi cAMP este şi ea diferită (inhibiţie ? activare ?).

Scanned with OKEN Scanner

Oricum, Carlson şi colab. (164) consideră că rolul PGE_1 în reglarea lipolizei de la nivelul ţesutului adipos în condiţii fiziologice este îndoielnic.

III.3.12. ROLUL LIPOTROPINELOR ÎN METABOLISMUL LIPIDIC ŞI LIPOPROTEINIC

Încă din anul 1931, Anselmino şi Hoffman (citaţi de 167) au demonstrat la şobolan creşterea acetonemiei după injectarea unui extract din hipofiza anterioară de bou. Graţie cercetărilor lui Seifert, din jurul anilor 1956, 1957 (citat de 167, 168), problema este reluată, vorbindu-se şi despre substanţa mobilizatoare de grăsimi (FMS, 168), factorul mobilizator de grăsimi (174), hormonul betalipotropic (177, 178), lipotropine (167, 175).

O recentă sinteză teoretică a cercetărilor în acest domeniu (Schwandt, 167) consfinţeşte denumirea de lipotropine pentru două peptide mobilizatoare de lipide, care sînt lipolitic active la 10 specii animale, inclusiv la om. În anul 1972, se reuşeşte descifrarea structurii primare a hormonului betalipotropic uman, care conţine secvenţa de aminoacizi comună cu hormonul melanostimulator (MSH) şi chiar cu ACTH-ul (167, 177).

Mecanismul acţiunii lipolitice este explicat prin inhibiţia fosfodiesterazei şi/sau prin activarea adenilciclazei ; mecanismul este dependent de calciu care, în momentul activării adenilciclazei, pătrunde în celulă (170). Trygstad (170) evidenţiază şi alte efecte ale lipotropinelor :

— hipercetonemie care, prin insulinotropismul secundar, antrenează hipoglicemie ;

— efect insulinotrop direct, de unde rezultă hiperinsulinism ce poate fi implicat în efectul lipogenetic (îndoielnic) al lipotropinelor.

Relaţia lipotropine-metabolism glucidic „via“ insulină este controversată, deoarece s-a demonstrat şi stimularea secreţiei de glucagon de către aceste peptide (179). Dacă la aceasta se adaugă şi mimarea de către lipotropine a unor efecte aparţinînd altor hormoni „tropi“ hipofizari (MSH, ACTH, STH, FSH, LH), avem o imagine asupra dificultăţilor întîmpinate de interpretarea acţiunilor metabolice ale lipotropinelor. Dar, prin perfecţionarea metodelor radioimunologice de determinare a activităţii lor (178), se întrevăd perspectivele elucidării la om a rolului peptidelor în lipomobilizare, în diferite circumstanţe fiziologice şi patologice.

III. 4. ROLUL ALIMENTAŢIEI ÎN REGLAREA METABOLISMULUI LIPIDIC

Relaţia dintre alimentaţie şi metabolismul lipidic trebuie privită din mai multe puncte de vedere :

1) lipidele ca principiu alimentar energogen major ;

Scanned with OKEN Scanner

2) rolul reglator al glucidelor, lipidelor, protidelor alimentare asupra metabolismului lipidic şi lipoproteinic ;

3) potenţialul aterogen al pato-alimentaţiei excedentare, extrem de frecventă în ţările cu alură economică de tip industrial.

Abordarea rolului reglator al alimentaţiei asupra metabolismului lipidic şi lipoproteinic se va face defalcat :

— influenţa alimentaţiei asupra lipidelor şi lipoproteinelor serice ;

— influenţa alimentaţiei asupra metabolismului lipidic şi lipoproteinic.

III.4.1. INFLUENŢA ALIMENTAŢIEI ASUPRA LIPIDELOR ŞI LIPOPROTEINELOR SERICE

A. INFLUENŢA LIPIDELOR ALIMENTARE

Lipidele alimentare, prin variaţia lor cantitativă şi calitativă, exercită un profund efect asupra lipidelor şi lipoproteinelor serice (181). Afirmaţia că lipidele saturate din alimentaţie cresc colesterolemia, iar lipidele nesaturate o scad, a devenit cunoscută şi în lumea laică. Într-adevăr, din anul 1952 de cînd Kinsell (citat de 182, 183) a demonstrat efectul hipocolesterolemiant al uleiului de origine vegetală, studiile vizînd această temă au fost foarte numeroase, dar şi foarte variate în concluzii (184, 187). Această divergenţă de opinii are ca substrat polimorfismul grupurilor de studiu, diferenţele eco-geografice şi, mai ales confuzia regretabilă, rezultată din acceptarea ecuaţiei, după care, grăsimea animală este echivalentă cu grăsimea saturată (187). Este adevărat că în grăsimea de origine animală predomină acizi graşi saturaţi, dar este tot atît de adevărat că un animal hrănit cu grăsime nesaturată, va avea în grăsimea de depozit o netă predominanţă a acizilor graşi nesaturaţi faţă de cei saturaţi (187). Respectînd acest principiu, reevaluarea conceptului asupra influenţei lipidelor alimentare saturate şi nesaturate asupra lipidelor şi lipoproteinelor plasmatice se face astfel (185—189) :

— acizii graşi saturaţi, cu un număr de atomi de carbon între 12 şi 18 (lauric, miristic, palmitic, stearic), induc creşterea colesterolului seric şi a LDL, fără a influenţa semnificativ trigliceridele şi VLDL ;

— acizii graşi saturaţi cu un număr de atomi de carbon mai mic decît 12 (butiric, caproic, caprilic), sau mai mare decît 18 (arahidic, behenic), nu influenţează colesterolemia şi LDL, dar induc creşterea trigliceridelor şi a VLDL ;

— acizii graşi mononesaturaţi (palmitoleic şi oleic), dar mai ales cei polinesaturaţi (linoleic, linolenic, arahidonic), au efect hipocolesterolemiant fără a afecta semnificativ trigliceridele şi VLDL ;

— colesterolul alimentar este elementul cel mai important care influenţează colesterolul seric. La fiecare 100 mg colesterol din 1 000 calorii alimentare rezultă o creştere a colesterolului seric cu 12 mg% (189). Efectul hipercolesterolemiant al lipidelor alimentare de tip saturat, dar fără creşterea corespunzătoare şi a colesterolului alimentar, nu poate fi luat în considerare, neavînd substrat biochimic plauzibil (187) ;

Scanned with OKEN Scanner

— hidrogenarea grăsimilor alimentare polinesaturate, are două efecte nefavorabile (181) : scăderea gradului de nesaturabilitate (scăderea indicelui iodic) și apariția acizilor grași forma „trans", care au efect hipertrigliceridemiant.

Efectul unei diete hiperlipidice asupra spectrului lipidelor și lipoproteinelor serice, a fost studiat de Ahrens încă din anul 1957 (192). Se demonstrează că în eventualitatea unei alimentații formate din 70% lipide polinesaturate (ulei de porumb), trigliceridele și VLDL serice scad. Dacă procentajul de 70% era format din lipide saturate, trigliceridele și VLDL serice cresc.

Lipidele alimentare influențează nu numai lipidele și lipoproteinele serice, ci și AGL-mia și acizii grași din compoziția lipoproteinelor serice. În tabelul III.10 sînt redate efectele uleiului de porumb (în care domină acizii grași polinesaturați) și ale uleiului de nucă de cocos (format predominant din acizi grași saturați) asupra acizilor grași din extractul lipidic total, trigliceridelor și esterilor de colesterol din lipoproteinele serice umane (190). În cadrul fiecărei clase lipoproteinice se remarcă

Tabelul III.10

Compoziția în acizi grași ai extractului lipidic total, trigliceridelor și esterilor de colesterol din lipoproteinele serice umane în diferite condiții : „à jeun", după administrarea orală de ulei de porumb (16 : 0,11%; 18 : 1,27%; 18 : 2,61%) sau ulei de nucă de cocos (10 : 0,9%; 12 : 0,61%; 14 : 0,20%; 16 : 0,7%) (după Kayden și colab. 190)

Acizi grași	Compoziția în : %								
	Lipide totale			Trigliceride			Esteri de colesterol		
	„à jeun"	după ulei de porumb	după ulei de nucă de cocos	„à jeun"	după ulei de porumb	după ulei de nucă de cocos	„à jeun"	după ulei de porumb	după ulei de nucă de cocos
Lipoproteine cu D < 1.019 g/ml (VLDL)									
12 : 0	0	1	5	1	1	15	1	1	5
14 : 0	0	1	6	2	2	6	2	2	7
16 : 0	28	25	29	28	15	27	20	19	25
18 : 0	10	5	3	4	5	5	2	3	3
18 : 1	42	33	40	53	44	42	45	38	34
18 : 2	20	35	17	12	33	5	30	37	28
Lipoproteine cu D = 1.019—1.063 g/ml (LDL)									
12 : 0	0	0	1	1	1	2	2	1	1
14 : 0	1	1	2	1	2	3	1	2	2
16 : 0	32	33	30	33	27	27	18	18	18
18 : 0	5	3	6	10	8	10	3	1	5
18 : 1	33	35	36	45	43	47	33	30	28
18 : 2	29	28	25	10	19	11	42	46	46
Lipoproteine cu D = 1.063—1,21 g/ml (HDL 2+3)									
12 : 0	0	0	0	2	0	6	6	1	4
14 : 0	1	1	5	2	2	6	3	4	3
16 : 0	37	32	31	30	24	28	19	20	16
18 : 0	8	8	8	8	4	5	4	3	1
18 : 1	33	30	30	46	39	42	28	29	31
18 : 2	21	29	20	12	31	13	40	43	45

Scanned with OKEN Scanner

afectarea mai redusă a esterilor de colesterol în comparaţie cu triglicéridele din VLDL. Aceeaşi observaţie este valabilă şi în cazul triglicéridelor din VLDL sau a esterilor de colesterol din LDL sau HDL, studiate după un prînz mixt (tabelul III.11).

Tabelul III.11

Acizii graşi (%) din compoziţia lipidelor lipoproteinice la om, în condiţii „à jeun" sau postprandial (dietă mixtă)
(după Freeman şi colab., Lindgren şi colab. — citaţi de 182)

	Ser postprandial			Plasma „à jeun"		
Acizi grasi	VLDL	LDL	HDL	VLDL	LDL	HDL
			Gliceride			
<16 : 0	4,8	10,1	8,5	1,0	0,7	0,8
16 : 0	23,3	23,1	23,5	26,9	23,1	23,4
16 : 1	4,0	4,1	4,0	3,3	2,8	2,9
16 : 1—18 : 0	1,1	1,9	1,7	—	—	—
18 : 0	3,5	4,1	4,0	2,9	3,3	3,5
18 : 1	36,5	35,4	35,3	45,4	46,6	43,8
18 : 2	21,8	15,6	15,7	15,7	15,7	15,9
18 : 2—20 : 4	3,2	3,5	4,7	1,5	1,5	1,2
20 : 4	1,0	1,4	1,6	2,5	5,4	7,6
			Esteri de colesterol			
16 : 0	4,5	3,8	3,6	—	—	—
16 : 0	21,0	10,5	10,3	11,5	11,3	11,4
16 : 1	3,0	3,4	3,3	1,8	1,9	2,1
16 : 1—18 : 0	1,4	1,3	1,0	—	—	—
18 : 0	5,6	1,5	1,2	1,4	1,0	1,1
18 : 1	34,9	18.2	18,5	25,6	22,4	22,4
18 : 2	25,3	50,7	51,0	51,8	54,9	54,8
18 : 2—20 : 4	2,5	3,8	3,0	0,8	0,7	0,6
20 : 4	1,8	5,6	6,3	6,1	6,9	6,3
			Fosfolipide			
16 : 0	3,6	4,2	3,8	—	—	—
16 : 0	33,3	30,1	29,6	33,8	36,0	31,8
16 : 1	1,5	1,4	1,6	0,5	0,5	0,4
16 : 1—18—0	1,9	1,5	1,8	—	—	—
18 : 0	19,0	15,1	15,5	14,7	14,3	14,5
18 : 1	13,4	12,1	12,6	12,2	11,6	12,3
18 : 2	16,0	19,3	18,9	20,3	18,9	20,6
18 : 2—20 : 4	4,1	4,4	4,7	4,1	4,6	3,9
20 : 4	4,9	7,5	9,5	13,6	13,2	15,7

Influenţarea AGL serici de către alimentaţie este redată în tabelul III.12 în cazul unei diete mixte. În eventualitatea unui singur prînz gras se remarcă dublarea concentraţiei de acid stearic şi scăderea concentraţiei de acid oleic (191).

Scanned with OKEN Scanner

Explicarea efectului lipidelor alimentare asupra lipidelor și lipoproteinelor serice este expusă în capitolul VI.9. O parte a fost abordată însă în capitolul I.3.

Tabelul III.12

AGL plasmatici (%) la om în condiții „à jeun" sau postprandial (dietă mixtă) (după Dole și colab., Goodman și colab., Freeman și colab., Lindgren și colab., Hollgren și colab. — citați de 182)

Tipul AGL	Plasma „à jeun"	Ser postprandial	Plasma „à jeun"	Ser postprandial
<16 : 0	2,6	7,6	5,4	1,9
16 : 0	23,2	25,0	23,1	24,2
16 : 1	2,4	4,3	3,6	3,3
16 : 1—18 : 0	—	2,2	1,6	0,9
18 : 0	2,9	10,0	14,3	13,2
18 : 1	32,6	26,0	35,2	45,0
18 : 2	14,5	15,9	8,1	9,0
18 : 2—20 : 4	1,3	4,1	4,3	1,4
20 : 4	4,7	2,0	—	1,3

B. INFLUENȚA GLUCIDELOR ALIMENTARE

Relația dintre glucidele alimentare și lipidele serice se află, în atenția cercetătorilor cu deosebire din anul 1957, de cînd Yudkin (193) a corelat consumul de sucroză cu ateroscleroza coronariană, și din anul 1961 cînd Ahrens și colab. a lansat conceptul lipemiei induse de glucide (194). De atunci numeroase echipe de cercetători au abordat această temă, astăzi conchizîndu-se că lipidele și lipoproteinele serice sînt influențate în condiții fiziologice sau patologice de cantitatea dar, mai ales, de tipul glucidelor din alimentație. În capitolul VI.9 vom detalia aceste aspecte. Subliniem totuși, următoarele (182, 183, 194—197) :

— o alimentație hiperglucidică izocalorică are ca efect creșterea trigliceridelor și a VLDL serice ;

— glucoza, fructoza și sucroza afectează în mod diferențiat triglicerideIe și VLDL serice. Efectul hipertrigliceridemiant al acestor glucide este mai evident la bolnavii cu HLP tip III, IV, IIb și V, în comparație cu subiecții normali.

Amidonul, practic, nu are efect asupra trigliceridelor și VLDL serice.

C. INFLUENȚA PROTEINELOR ALIMENTARE

Cantitatea și calitatea proteinelor alimentare nu poate să joace, în condiții fiziologice, un rol deosebit în influențarea nivelului lipidelor și lipoproteinelor serice (182).

Reducerea izocalorică a rației proteice alimentare produce o scădere a VLDL și LDL (198), probabil prin deficitul metioninic concomitent.

Scanned with OKEN Scanner

Furman şi colab. (citat de 182) prezintă scăderea concentraţiei serice a tuturor fracţiunilor lipoproteice consecutiv unei diete în care s-a produs substituţia izocalorică a proteinelor alimentare prin hidraţi de carbon.

Creşterea raţiei proteice alimentare, aşa cum se observă la eschimoşi, care au 45% din calorii provenite din proteine, nu influenţează lipidele serice (182).

D. INFLUENŢA VARIAŢIEI APORTULUI CALORIC ALIMENTAR

Reducerea aportului caloric alimentar la subiecţii normali se însoţeşte de scăderea ponderală şi reducerea fracţiunilor lipoproteice, în special dacă alimentaţia este şi hipolipidică (Nichols şi colab., citaţi de 182).

Excesul caloric la subiecţi normali induce, alături de suprapondere sau obezitate, creşterea TG-VLDL şi mai puţin a colesterolului-LDL, în funcţie de principiul alimentar dominant (glucidic sau lipidic) (182).

E. INFLUENŢA ALTOR SUBSTANŢE ALIMENTARE

Dintre substanţele consumate de om alături de alimente, şi care au influenţă asupra lipidelor şi lipoproteinelor serice, se numără cafeaua şi alcoolul. Detalii asupra mecanismelor de acţiune (întotdeauna în sens hiperlipemiant) sînt redate în capitolul VI. Alte substanţe din alimente care sînt implicate în mecanismele reglatoare ale lipidelor şi lipoproteinelor serice sînt : magneziul, cromul, litiul, zincul, calciul.

III.4.2. INFLUENŢA ALIMENTAŢIEI ASUPRA METABOLISMULUI LIPIDIC ŞI LIPOPROTEINIC

Modificările produse de alimentaţie în metabolismul lipidic şi lipoproteinic trebuie privite corelativ cu influenţarea metabolismului glucoprotidic şi a homeostaziei hormonale, în cadrul funcţiilor generale energogene şi plastice, precum şi corelativ cu starea nutriţională a organismului (postprandial şi postabsorbtiv).

Influenţa tipului alimentaţiei asupra metabolismului lipidic şi lipoproteic trebuie raportată la modificările consecutive unui singur prînz, sau unui anumit tip de alimentaţie, de cel puţin cîteva zile.

Date complete asupra acestor modificări la om lipsesc datorită dificultăţilor de investigaţie, iar translaţia celor obţinute în condiţii experimentale la animale, necesită multă prudenţă.

Vom detalia modificările metabolismului lipidic şi lipoproteinic în etapa postprandială şi postabsorbtivă, care urmează unui prînz mixt. Aceste etape corespund fazelor ana- şi catabolice ale funcţiei generale metabolice. Influenţa exercitată asupra metabolismului lipidic şi lipoproteinic, de către alimentaţia predominant glucidică sau lipidică, va fi expusă în capitolul VI.9.

Scanned with OKEN Scanner

A. STAREA POSTPRANDIALĂ SAU ABSORBTIVĂ

Starea postprandială sau absorbtivă este perioada de 12 ore care urmează unui prînz (129) și care se caracterizează din punct de vedere nutrițional printr-un aport masiv de substanțe energetice (glucide și lipide) și plastice (proteine), cît și prin transformarea lor metabolică, în sens anabolizant, în special sub influența insulinei.

APORTUL DE SUBSTANȚE ENERGETICE ȘI PLASTICE

În cazul unui prînz cu compoziție mixtă, are loc digestia principiilor alimentari (glucide, lipide, proteine) și transformarea lor din substrate macromoleculare de rezervă neabsorbabile, în substrate libere, moleculare și absorbabile (200). Din punct de vedere metabolic, faza de digestie este o fază catabolică, precursoare de fapt a fazei anabolice propriu-zise. Absorbția aminoacizilor, monozaharidelor și lipidelor, are drept consecință hiperaminoacidemia, hiperglicemia și lipemia alimentară.

Ce este lipemia alimentară ? Întrebarea ar părea inutilă dacă răspunsul s-ar baza doar pe repetarea conținutului definiției, aceasta deoarece lipemia alimentară este modificarea excedentară a spectrului lipidic și lipoproteinic seric, care survine în perioada postalimentară, consecutivă atît aportului lipidic exogen, cît și endogen. În capitolul II am discutat absorbția lipidelor, formarea chilomicronilor, a particulelor secundare, cît și secreția intestinală a VLDL. Am amintit, cu acel prilej participarea lipidelor endogene la formarea chilomicronilor. Sullivan și colab. (201) consideră că participarea lipidelor endogene la patogenia lipemiei alimentare este de 7%, dar sînt posibile variații procentuale individuale. Absorbția concomitentă a glucidelor și proteinelor influențează cota acizilor grași endogeni care participă la lipemia alimentară (201).

MODIFICĂRI HORMONALE

Alimentația declanșează în organism modificări nu numai prin aportul glucido-lipido-protidic, ci și prin stimularea secreției hormonilor intestinali (gastrină, secretină, pancreozimină) (94) și a secreției de insulină pe cale nervoasă (reflex condiționat sau necondiționat) (202, 203) sau directă.

Declanșarea secreției hormonilor intestinali (gastrină, secretină, pancreozimină), de către alimentele prezente în duoden și jejun, este un fenomen de mare importanță, mai ales în menținerea homeostaziei glicemice. Cei trei hormoni vor stimula insulinosecreția, în plus pancreozimina va stimula și celulele alfa-insulare avînd drept consecință secreția de glucagon, aceasta avînd rol de stimulare a secreției de insulină. Aceste fapte de mare importanță sînt cuprinse în conceptul lui Unger asupra „axei enteroinsulare" (94), redat în figura III.19. Trebuie menționată rezerva asupra rolului enteroglucagonului în stimularea beta-insulară.

Scanned with OKEN Scanner

Deci, după un prînz mixt, asistăm la creşterea secreţiei de insulină şi inhibiţia secreţiei de glucagon, raportul insulină/glucagon fiind crescut. Inhibiţia secreţiei de glucagon se explică prin existenţa aportului energetic necesar (glucoza) şi inutilitatea momentană a căii gluconeogenetică.

Din momentul absorbţiei produşilor de digestie glucido-lipido-protidici, asistăm la acţiunea lor asupra pancreasului endocrin. Astfel, atît hiperglicemia, cît şi hiperaminoacidemia sînt excitanţi specifici ai celulelor betainsulare (200). Hiper-AGL-mia exercită, de asemenea, un rol insulino-secretor dar nu de aceeaşi intensitate ca şi glicemia şi aminoacidemia (204).

Acest nou status, caracterizat pe de o parte prin aport de substanţe energetice şi plasmatice, iar pe de altă parte prin secreţia principalului hormon anabolizant — insulina, va decide de fapt caracteristicele fazei anabolice a funcţiei generale metabolice.

MODIFICĂRILE METABOLISMULUI LIPIDIC

Deşi ne găsim în plină fază anabolică, chilomicronii şi VLDL suferă un marcat proces de transformare catabolică, conform descrierii din capitolul II.

În ţesutul adipos, insulina activează LPL (fig. III.26) avînd drept consecinţă hidroliza trigliceridelor din chilomicroni şi VLDL, cît şi pătrunderea AGL în ţesutul adipos. La acest nivel, în prezenţa alfa-glicerofosfatului aflat şi ei în exces datorită penetraţiei şi catabolismului glucozei, se vor forma trigliceride care se depozitează. Concomitent, activitatea sistemului lipolitic este diminuată (199), astfel încît lipoliza la acest nivel este scăzută.

În ficat se prezintă pentru a fi metabolizate în această perioadă postalimentară următoarele substanţe : glucoza (care are intrare „liberă" în hepatocit), aminoacizii, acizi graşi cu lanţ mai mic de 10 şi o cantitate redusă de acizi graşi cu lanţ mai mare de 10. Consecinţele asupra metabolismului lipidic vor fi :

— stimularea biosintezei acizilor graşi, care se vor uni apoi cu alfa-glicerofosfatul rezultat din glicoliză pentru a forma trigliceridele. Acestea vor participa, în continuare, la formarea şi secreţia VLDL şi, eventual, a LDL ;

— concomitent, asistăm la depozitarea aminoacizilor sub forma proteinelor şi a glucozei sub forma glicogenului. Toate aceste procese de înmagazinare a energiei sînt mai mult sau mai puţin insulinodependente.

În muşchi, are loc pătrunderea condiţionată de prezenţa insulinei a aminoacizilor, glucozei şi a AGL (de provenienţă lipoproteică sau în grad mai redus, din trigliceridele adipocitare). În continuare se vor forma trigliceride, proteine şi glicogen, conform căilor şi secvenţelor descrise în capitolul II.

Toate aceste date trebuie însă corelate şi cu mecanismele reglatorii ale metabolismului colesterolului, declanşate de alimentaţie. În acelaşi timp, trebuie luat în considerare aportul alimentar de fosfolipde.

Scanned with OKEN Scanner

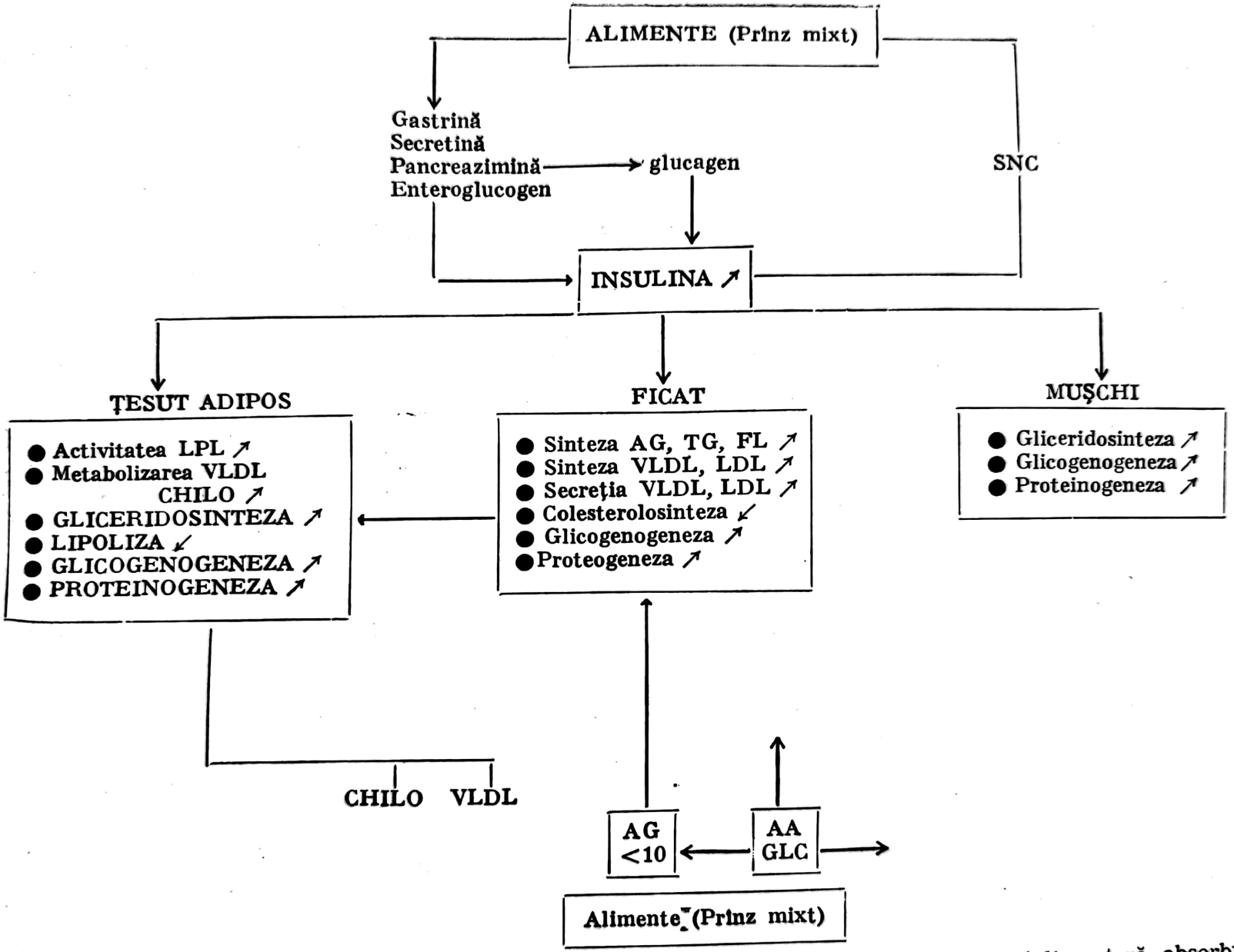


Fig. III.26. — Schema generală a modificărilor neuro-endocrinometabolice în etapa postalimentară absorbtivă) :
SNC = sistem nervos central.

Scanned with OKEN Scanner

Din punct de vedere cantitativ, intensitatea proceselor metabolice anabolizante nu este aceeaşi în tot cursul fazei postalimentare. Oricum, finalitatea ei este reprezentată de înmagazinarea substanţelor energogene sub forma trigliceridelor, glicogenului şi proteinelor. La sfîrşitul perioadei postalimentare şi în starea postabsorbtivă imediată, un subiect normal în greutate de 70 kg dispune de rezerve energetice redate în tabelul III.13. Cahill (205) consideră că atît din punct de vedere morfologic, cantitativ, cît şi funcţional, principala formă de depozitare a combustibilului energogen este reprezentată de lipide (trigliceride).

Tabelul III.13

Formele de depozitare a energiei la om (subiect normal de 70 kg), aflat la sfîrşitul perioadei postalimentare şi la începutul perioadei postabsorbtive imediate; alimentaţia anterioară determinărilor a fost de 1 800 calorii/24 h (după Cahill—105)

Forma şi locul de depozitare a energiei	kg	Calorii
Tisulară		
— Ţesut adipos (TG adipocitare)	15	141 000
— Proteine (în special musculare)	6	24 000
— Glicogen muscular	0,150	600
— Glicogen hepatic	0,075	300
Total		165 900
Circulantă		
Glucoza (lichid extracelular)	0,020	80
AGL plasmatici	0,0003	3
TG plasmatice	0,003	30
Total		113

B. STAREA POSTABSORBTIVĂ

Starea postabsorbtivă se referă la perioada care depăşeşte 12 ore după ultimul prînz. În funcţie de mărimea acestui parametru deosebim (199):

— starea postabsorbtivă imediată (12—18 ore după ultimul prînz);
— inaniţia de scurtă durată (48—96 ore după ultimul prînz);
— inaniţie prelungită (4—6 zile).

Starea postabsorbtivă este caracterizată prin procesele catabolice în scop energogen. Trecerea de la faza anabolică, la faza catabolică a funcţiei generale metabolice se face lent, ca urmare a scăderii glicemiei, aminoacidemiei şi reducerii lipemiei alimentare, datorită lipsei aportului exogen. În felul acesta se suprimă stimulii insulinosecretori şi se induce treptat stimularea alfa-insulară şi secreţia de glucagon, raportul insulină/glucagon micşorîndu-se. Concomitent, creşte secreţia corticoizilor, STH-ului şi a catecolaminelor. În consecinţă, procesele metabolice de la nivelul principalelor organe amintite vor fi de tip catabolic, pentru a asigura necesităţile energogene importante (cerebrale, anumite tipuri musculare etc.).

Scanned with OKEN Scanner

STAREA POSTABSORBTIVĂ IMEDIATĂ

În această perioadă de 6 ore se prefigurează modificările metabolice de tip catabolic, care vor deveni maxime în timpul inaniției de scurtă durată și mai ales în cea de lungă durată (199, 205, 206).

Glucoza provenită din glicogenul hepatic este eliberată în sînge în cantitatea de 6 g/24 de ore. Din aceasta, 1/6 se reîntoarce în ficat sub formă de lactat (ciclul Cori) și o mică parte sub formă de alanină (ciclul alanină). Această glucoză se distribuie acum spre creier, eritrocite și medulara suprarenalei.

AGL proveniți din hiperlipoliza trigliceridelor adipocitare sînt eliberați în sînge în cantitate de 7 g/oră, împreună cu 0,3 g glicerol. AGL sînt orientați preferențial spre țesutul muscular, în timp ce glicerolul participă la GNG, în ficat. Remarcăm că metabolizarea preferențială la nivelul țesutului adipos al LDL și VLDL nu se mai face. Acest lucru are loc acum la nivelul mușchilor striați, deoarece necesitățile energetice impun o astfel de redistribuție metabolică.

Lipoproteinele se metabolizează preferențial în țesutul muscular și devin o foarte importantă sursă de AG, alături de lipoliza trigliceridelor deja stocate. Procesele catabolice de la acest nivel vizează :

a) proteoliza în urma căreia aminoacizii (alanina în special) se eliberează în sînge, îndreptîndu-se spre ficat, pentru a participa la GNG (ciclul glucoză-alanină) ;

b) glicogenoliza declanșează două căi metabolice importante : pe de o parte de piruvat care se transformă în aminoacizi și, mai ales, în lactat (acesta se îndreaptă spre ficat pentru a intra în calea GNG ciclul Cori). Pe de altă parte, alfaglicerofosfatul se poate angaja alături de acizii grași de proveniență lipoproteică, pe calea sintezei TG ;

c) lipoliza trigliceridelor nou formate dar, mai ales, a celor depozitate deja este un fenomen important deoarece AGL rezultați reprezintă alături de corpii cetonici, o sursă energogenă majoră a mușchiului în această fază. Glicerolul rezultat din hidroliza TG, se îndreaptă spre ficat în vederea GNG.

În ficatul „catabolic" au loc următoarele procese metabolice importante :

a) producția de glucoză prin glicogenoliză și GNG (din aminoacizi, lactat și glicerol) ;

b) intensificarea cetogenezei și ureogenezei ;

PERIOADA DE INANIȚIE

În această perioadă se conturează tabloul neurohormonal ca ripostă la accentuarea scăderii plasmatice a glucozei, AGL și aminoacizilor. Astfel, insulinemia scade, în timp ce glucagonul, catecolaminele, STH-ul și corticoizii sînt secretați în exces (fig. III.27).

Liniile metabolice afectate sînt : scăderea lipogenezei și creșterea lipolizei din țesutul adipos, creșterea proteolizei în țesutul muscular, a glicogenolizei în țesutul muscular și ficat, intensificarea GNG în ficat

Scanned with OKEN Scanner

şi rinichi, cît şi a cetogenezei în ficat. Finalitatea acestora este creşterea producţiei de glucoză, AGL, corpi cetonici, aminoacizi şi lactat. Concomitent, însă, aceşti produşi sînt distribuiţi preferenţial : glucoza spre creier, medulara suprarenalei, hematii şi leucocite ; acizii graşi liberi spre muşchi ; corpii cetonici spre muşchi, (dar se notează capacitatea creierului de a utiliza corpi cetonici) ; aminoacizii şi lactatul spre ficat.

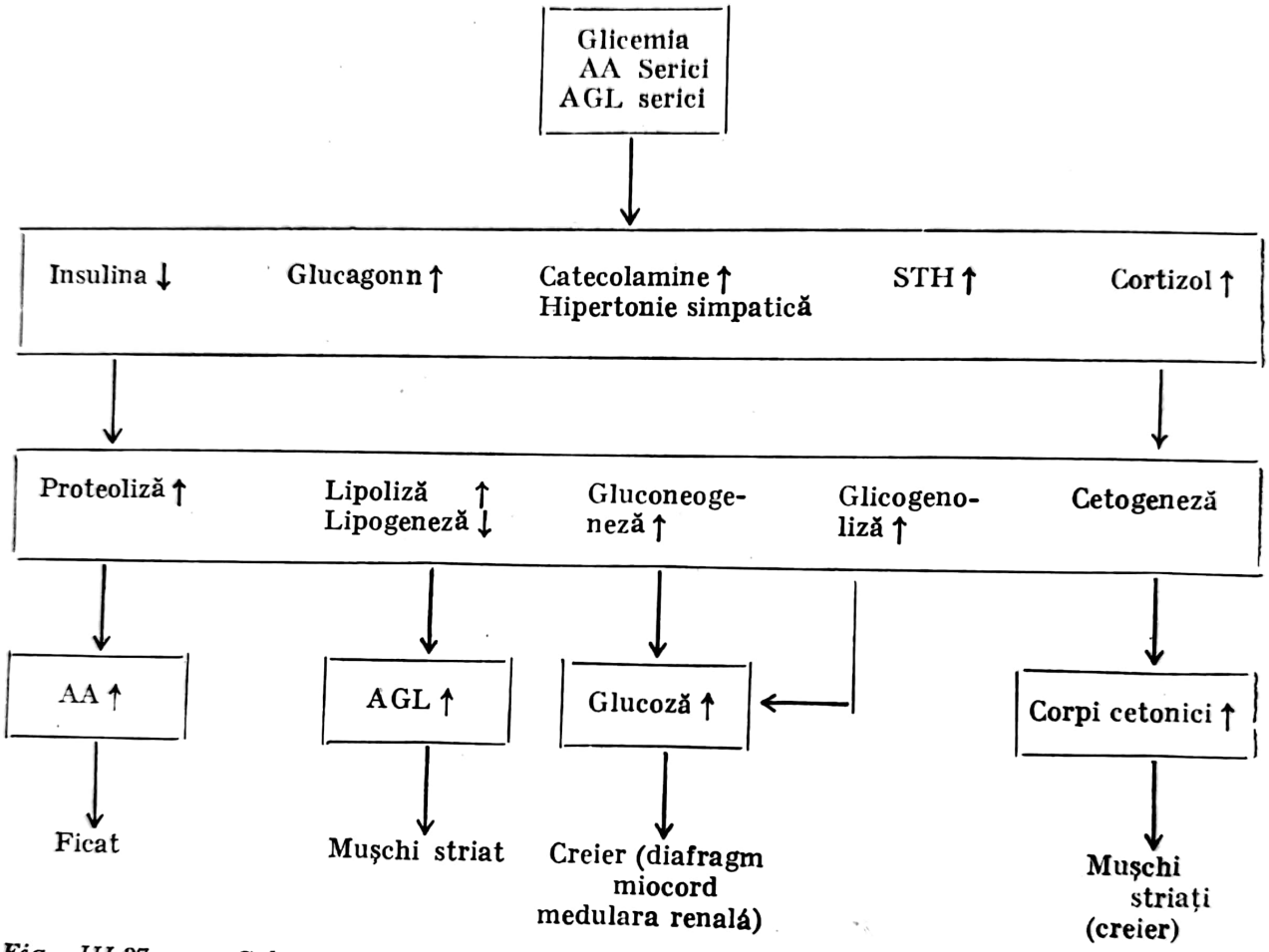


Fig. III.27. — Schema generală a modificărilor neuro-endocrinometabolice din inaniţie.

Cercetările lui Cahill demonstrează că principalul combustibil al organismului uman în inaniţie este reprezentat de acizii graşi liberi, rezervorul fiind trigliceridele adipocitare. Epuizarea rezervelor de glicogen se produce în primele 2 zile. Proteoliza, de asemenea, scade treptat în cursul inaniţiei, denotînd astfel tendinţa organismului de economisire a proteinelor. Un fapt remarcabil este capacitatea creierului de a utiliza, în inaniţia de lungă durată, acetoacetat şi betahidroxibutirat, aceasta tot în cadrul efortului organismului de economisire a glucozei neoformate şi a proteinelor (205).

Aceste modificări neurohormonale şi metabolice, sînt gradate din punct de vedere cantitativ, în funcţie de nivelul bazal al ţesutului adipos, şi muscular, cît şi de durata inaniţiei. În tabelele III.14 şi III.15 sînt re-

Scanned with OKEN Scanner

date diferențele cantitative între liniile metabolice expuse mai sus, exprimate prin rata transportului sanguin al combustibililor energogeni majori și nivelul lor seric sau al utilizării corpilor cetonici (tabelul III.16).

Tabelul III.14

Rata transportului sanguin al combustibililor majori și precursorilor lor, în cele trei stadii ale stării postabsorbtive (după Havel – 199)

Tipul „combustibilului"	Perioada postabsorbtivă imediată	Inanitie de scurtă durată	Inanitie de lungă durată
	g/h		
Glucoză — ficat	6,0	2,0	1
– rinichi	<0,5	0,5	1
Aminoacizi	1,5	2,5	1
Glicerol	0,4	0,8	1
AGL	7,0	14,0	14
Corpi cetonici	1,0	3,0	3

Tabelul III.15

Nivelul plasmatic al combustibililor energogeni și al precursorilor lor în diferite etape de observație (după Cahill – 205)

Perioada de observație	Glicemie	AGL	Aceto-acetat	β-hidro-butirat	Glicerol	Amino-acizi	Lactat	Piruvat
	mg/100 ml			mM				
Postabsorbtiv	80	0,5	0,01	0,01	0,06	4,5	0,6	0,1
Inaniție 7 zile	65	1,5	1,0	4,0	0,1	4,5	0,6	0,1
Inaniție 28–35 zile	65	1,5	1,5	6,0	0,1	3,5	0,6	0,1

Tabelul III.16

Utilizarea corpilor cetonici în cele trei stadii ale stării postabsorbtive (după Havel – 199)

Țesutul	Perioada postabsorbtivă imediată	Inanitia de scurtă durată	Inanitia de lungă durată
	g/h		
Mușchii striați	0,5	2,0	<0,5
Creier	<0,3	1,0	1,5
Rinichi	<0,3	<0,5	1,5

Scanned with OKEN Scanner

În figura III.28 şi III.29 sînt redate aspectele cantitative generale legate de metabolismul omului, după o inaniţie de 5—6 săptămîni, cît şi „à jeune" de 24 de ore.

Legat de metabolismul lipidic, se impun unele detalieri ale acestor stadii. Unele comentarii sînt valabile şi în cazul stadiului postprandial imediat. Este vorba de ciclul „AGL-glucoză", „AGL-lactat", „glucoză-

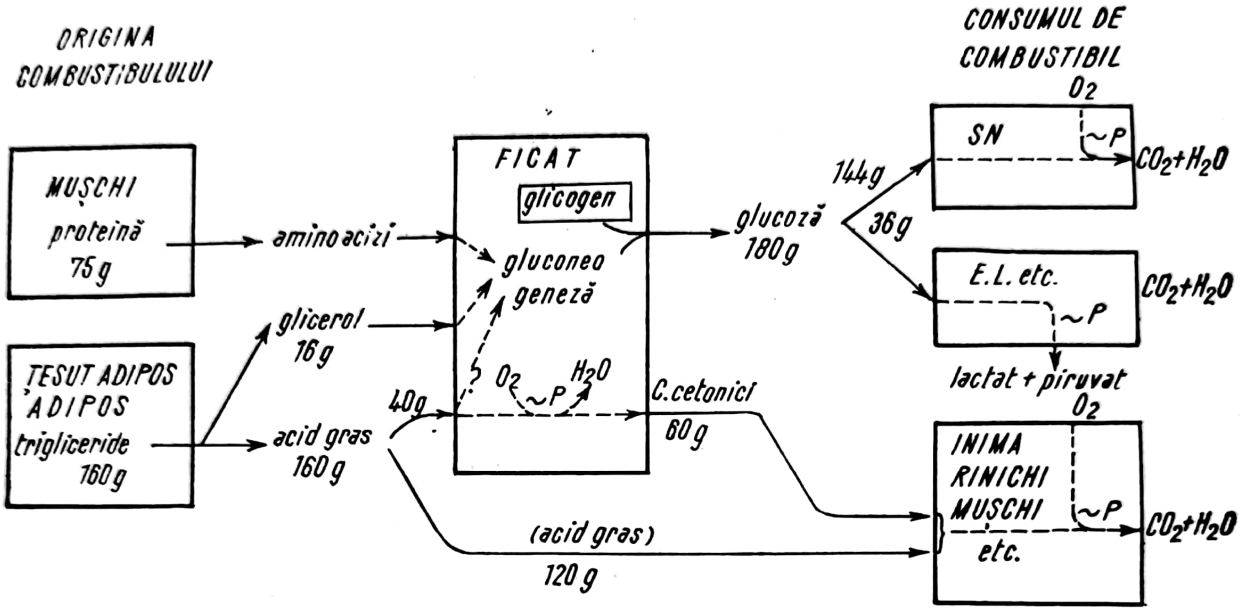


Fig. III.28. — Dinamica combustibilului energogen la om în timp de 24 de ore la un aport de 1 800 calorii (după Cahill, 205).

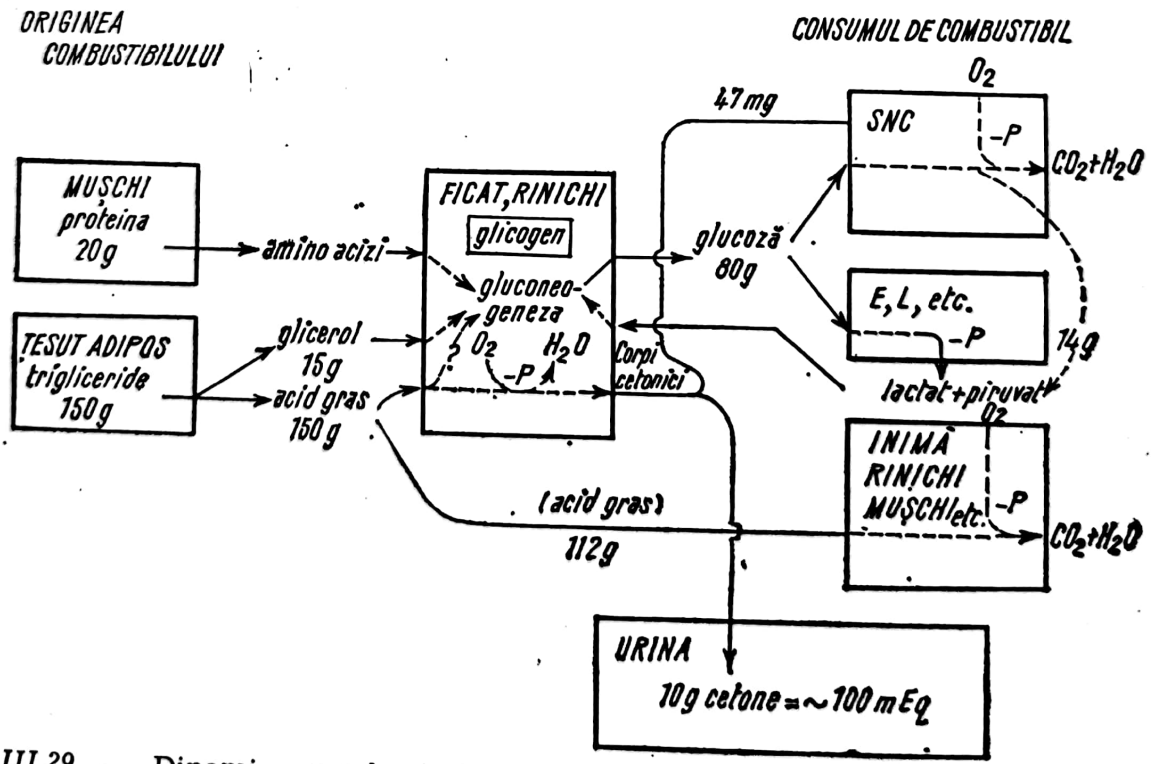


Fig. III.29. — Dinamica combustibilului energogen la om în timp de 24 de ore, în condiţii de inaniţie de 5—6 săptămîni ;
SNC = sistem nervos central ; E = eritrocite mature ; L = leucocite (după Cahill — 205).

Scanned with OKEN Scanner

lactat", „glucoză-alanină", depresia lipogenezei și lipoproteinogenezei exacerbarea lipolizei și a oxidării acizilor grași, precum și de hipercetogeneză.

a. *Ciclurile „AFL-glucoză" și „AGL-lactat"*

În anul 1963, Randle și colab. (207) au descris un nou ciclu metabolic, operant în stările hipoglicemiante, la nivelul țesutului adipos și muscular. În figura III.30 este redată schematic această concepție :

— În cazul unui aport crescut de AGL la nivelul mușchiului striat, drept consecință a hiperlipolizei trigliceridelor adipocitare sau musculare, în prezența carenței de alfaglicerofosfat se produce oxidarea energogenă a acestora în mitocondrii, competitiv cu glucoza. Aceasta este deci economisită, corectîndu-se astfel hipoglicemia. În cazul hiperglicemiei, are loc fenomenul invers : aport crescut de alfa-glicerofosfat în țesutul adipos și scăderea lipolizei și, deci, a AGL plasmatici, fapt ce determină utilizarea energogenă preferențială a glucozei în mușchi.

— Ciclul AGL-glucoză la nivelul ficatului are drept consecință stimularea căii GNG și a cetogenezei.

Valabilitatea și eficiența acestui ciclu încep să fie însă contestate.

b. *Ciclul „AGL-lactat" (200)*

Se referă la posibilitatea inhibiției lipolizei trigliceridelor adipocitare de către lactat, în timp ce prin utilizarea AGL la nivelul mușchilor se inhibă atît utilizarea glucozei, cît și a lactatului (fig. III.31). Este

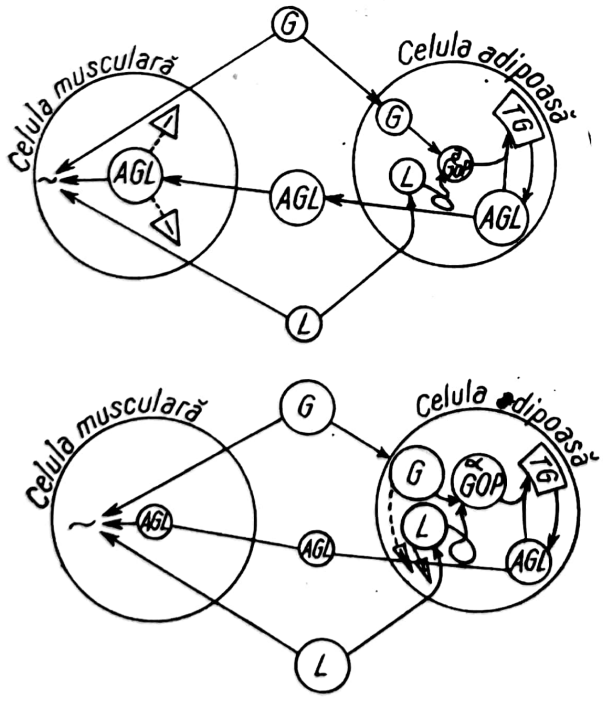


Fig. III.30. — Funcționalitatea ciclului „acid gras-glucoză" și a ciclului „acid gras lactat" (după Belloiu, 200).

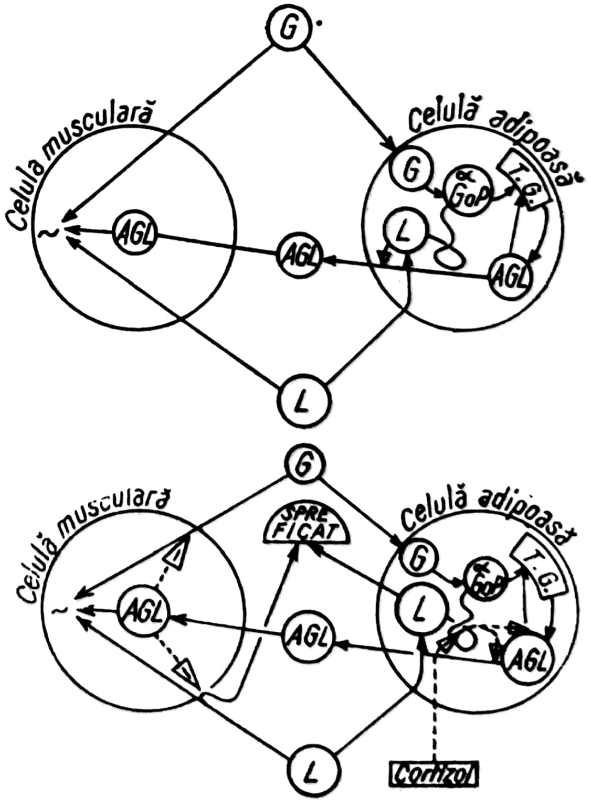


Fig. III.31. — Funcționalitatea ciclului „acid gras-lactat" și a cortizolului în orientarea lactatului spre ficat (după Belloiu, 200).

Scanned with OKEN Scanner

necesar să amintim că în stările caracterizate prin hiperproducţie de acid lactic (de exemplu efortul fizic intens şi prelungit) ar exista pericolul blocării lipolizei trigliceridelor adipocitare şi, deci, a suprimării unei foarte importante surse energogene. Acest lucru nu are loc, datorită secreţiei concomitente de cortizol care, blocînd PEP-CK, redistribuie lactatul de la nivelul muşchiului spre ficat.

c. *Ciclul „glucoză-lactat" (ciclul Cori)*

Este vorba de furnizarea lactatului de către muşchi, preferenţial spre ficat, unde participă la GNG sau la gliceroneogeneză (208). Clasic, se susţine că glucoza neoformată se reîntoarce în musculatura striată. În realitate, s-a demonstrat că ea se redistribuie spre sistemul nervos, miocard şi diafragm.

d. *Ciclul „glucoză-alanină" (ciclul Felig)*

A fost recent evidenţiat de Felig şi colab. (209), evidenţiindu-se astfel rolul cheie pe care-l joacă alanina în GNG hepatică din timpul inaniţiei (fig. III.32). Alanina provine nu numai din proteoliza musculară, dar şi din sinteza ei din alţi aminoacizi. În ficat, poate participa la ureogeneză sau la GNG.

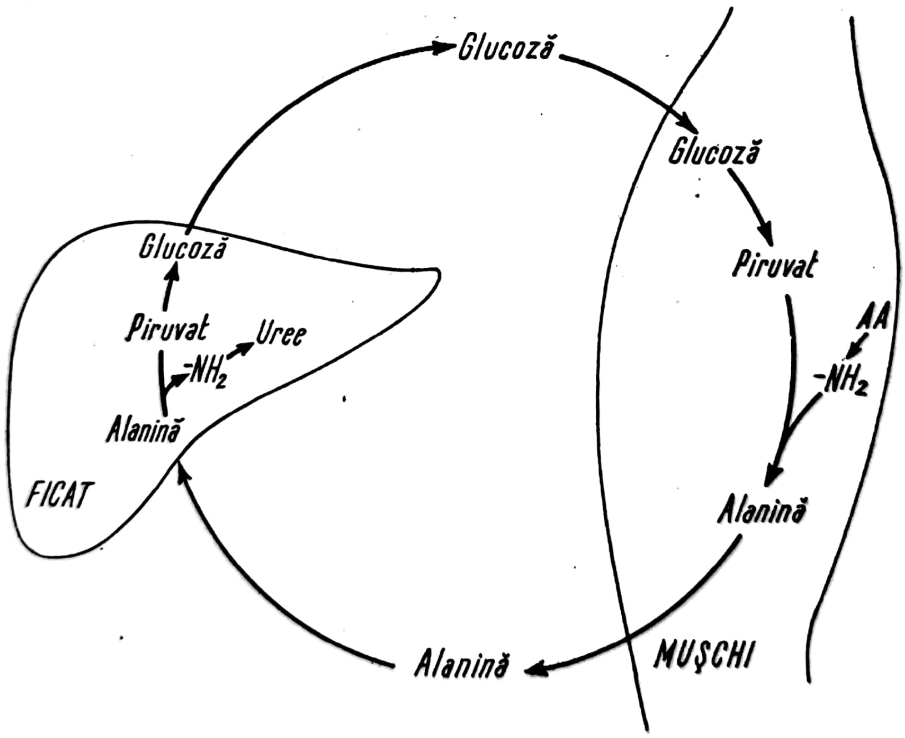


Fig. III.32. — **Ciclul „glucoză-alanină" (după Felig, 209).**

e. *Depresia lipogenezei şi a lipoproteinogenezei*

Deprimarea sintezei acizilor graşi în ficat este explicată prin scăderea activităţii aparatului enzimatic necesar acestui proces (inactivare, represie, degradare în proenzime inactive, 210 (tabelul III.17).

Scanned with OKEN Scanner

Sinteza trigliceridelor este scăzută în inaniție, atît în ficat, unde va fi afectată și lipoproteinogeneza, cît și în țesutul adipos (210). Cauza ar fi reorientarea acil CoA spre cetogeneză. Nu dispunem pînă în prezent de o explicație convingătoare asupra acestei linii metabolice preferențiale. Astfel, scăderea glicerin-1-P în ficat (scăderea deci a acceptorului

Tabelul III-17

Aparatul enzimatic implicat în sinteza acizilor grași în inaniție (Ag = acizi grași); sinteză a datelor din literatură (după Tarnowski și Seitz – 210)

Parametrii studiați	În ficat	În țesutul adipos
– Bilanțul global al biosintezei AG	↓	↓
– Glucoza – C^{14} → AG – C^{14}	↓	↓
– Biosinteza AG (din acetil – CoA)	↓	↓
– Acetil-CoA-Carboxilaza	↓	↓
– Transferul acetil – CoA în citosol	↓	↓
– Enzima de clivaj a citratului	↓	↓
– Acetattiokinaza	↓	↓
– Regenerarea de NADPH	↓	↓
– Isocitratdehidrogenaza	↓	↓
– Glucozo – 6 – P – dehidrogenaza	↓	↓
– Gluconat – 6 – P – dehidrogenaza	↓	↓
– Enzima malică	↓	↓
– Piruvatcarboxilaza (mitec)	↑	↓
– Piruvatcarboxilaza (citod)	↑	↑

gras activat) nu este acceptată de toți cercetătorii (210). Nici investigarea aparatului enzimatic implicat în gliceridosinteză nu a adus precizări în acest sens (210).

Ca o consecință a hipoinsulinismului din această fază și probabil a altor factori, formarea și secreția lipoproteinelor este net deprimată (210). Totuși, în inaniție, asistăm la scăderea moderată a VLDL serice, deoarece activitatea LPL în țesutul adipos este și ea scăzută concomitent. Se poate spune că este vorba de scăderea secvenței „imput" și „output" din metabolismul lipoproteic. Așa se explică lipemia de foame descrisă de unii autori.

f. *Creșterea lipolizei trigliceridelor adipocitare*

Creșterea lipolizei trigliceridelor adipocitare, este un fenomen dominant din punct de vedere cantitativ în această fază, fiind consecința acțiunii mai multor factori (210):

— hipoinsulinismul;
— creșterea glucagonului și a catecolaminelor;
— hipertonia simpatică;
— scăderea aportului de glucoză în adipocit.

Aceste modificări primare induc scăderea activității LPL și creșterea activității triglicerid-lipazei hormono-sensibile, avînd drept consecință

scăderea gliceridosintezei şi creşterea lipolizei. Se pare că în inaniţie glucagonul şi noradrenalina sînt hormonii lipolitici cei mai activi (210).

g. *Creşterea oxidării preferenţiale a acizilor graşi*

În inaniţie, oxidarea preferenţială a acizilor graşi în muşchi este un mecanism care economiseşte glucoza al cărei nivel seric este redus. La realizarea lui concură : hipoinsulinismul, hiper-AGL-mia, creşterea intracelulară a AG şi scăderea glucozei. În continuare, asistăm la hiperreactivitatea aparatului enzimatic implicat în transportul mitocondrial al acizilor graşi activaţi, şi a betaoxidării lor (în mod special creşte activitatea acetil-CoA-carnitin-transferazei) (211).

h. *Hipercetogeneza*

Hipercetogeneza în perioada de inaniţie este un fenomen constant şi cu expresie clinică cunoscută. Comparativ cu cetogeneza care are loc în condiţii normale, în inaniţie, secvenţele sînt următoarele (fig. III.33) (210, 212) :

— creşterea betaoxidării acizilor graşi produce o supraproducţie de acetil CoA care în continuare nu sînt folosiţi nici pentru sinteza acizilor graşi, şi nici pentru intrarea în ciclul Krebs. Împiedicarea intrării acetil CoA în ciclul Krebs este consecinţa deprimării citrat sintetazei

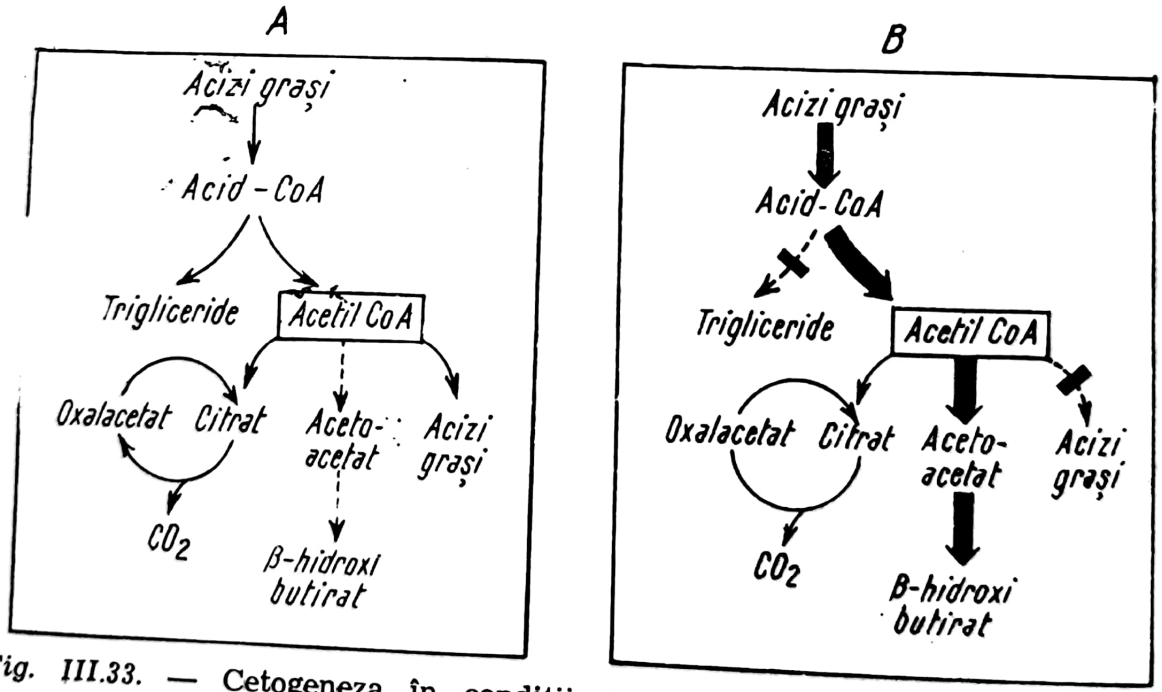


Fig. III.33. — Cetogeneza în condiţii normale (A) şi în perioada de inaniţie (B). (Modificat după McGarry şi Foster, 212).

de către acizii graşi cu lanţ lung aflaţi în exces şi a scăderii oxalacetatului, ca urmare a deplasării potenţialului redox spre partea redusă (concomitent creşte malatul) ;

— în consecinţă, grupările acetil CoA vor fi angajate predominant pe calea cetogenezei. Creşterea activităţii HMG-CoA-sintetazei şi a

HMG-CoA-liazei reprezintă suportul enzimatic al hipercetogenezei propriu-zise în urma căreia se formează acetoacetat, betahidroxibutirat şi acetonă.

Notăm faptul că depresia ciclului Krebs apare numai în inaniţia prelungită (212).

i. *Gluconeogeneza*

Calea GNG şi relaţia ei cu AGL a fost deja expusă.

III.5. ROLUL SISTEMULUI NERVOS ÎN REGLAREA METABOLISMULUI LIPIDIC ŞI LIPOPROTEINIC

Sistemul nervos intervine în reglarea metabolismului lipidic şi lipoproteinic, în condiţii fiziologice, prin trei modalităţi :

1) reglarea comportamentului alimentar ;
2) reglarea mobilizării lipidelor ;
3) reglarea secreţiei hormonilor care intervin în metabolismul lipidic.

III.5.1. ROLUL SISTEMULUI NERVOS ÎN REGLAREA COMPORTAMENTULUI ALIMENTAR

Controlul ingestiei de hrană este unul din mecanismele de mare complexitate ale organismului uman răspunzător de multe aspecte metabolice normale sau patologice. La modul general se poate vorbi de două tipuri de reglări ale comportamentului alimentar : reglare de scurtă durată şi reglare de lungă durată. Pentru o corectă interpretare a acestor tipuri de reglări este obligatoriu să le situăm în cadrul efortului organismului de menţinere a homeostaziei energetice.

Privind astfel lucrurile, vom distinge :

— sistemele de recepţie a rezervelor energetice : glucoreceptorii, liporeceptorii, termoreceptorii, receptorii tractului digestiv (care declanşează contracţiile gastrice de foame, distensia gastrică, pofta de mîncare) ;

— sistemele integratoare centrale : centrul foamei (situat în nucleii hipotalamici laterali), centrul saţietăţii (situat în nucleii ventromediani ai hipotalamusului, în amigdale şi centrii corticali ai sistemului limbic).

Funcţionalitatea lor în cadrul reglării de scurtă durată, cu ocazia fiecărui prînz, este redată în figura III.34.

Se impun unele detalii referitoare la relaţia dintre liporeceptori şi mecanismul lipostatic al controlului ingestiei de hrană. În anul 1966, Kennedy (216) sugerează existenţa liporeceptorilor în hipotalamus, sen-

Scanned with OKEN Scanner

sibili în special la variaţiile AGL-miei sau a lipidelor sanguine. Ei ar fi elementul principal în mecanismul lipostatic care, paralel cu mecanismul glucostatic şi termostatic, reglează ingestia de hrană. Alţi autori contestă acest lucru (207).

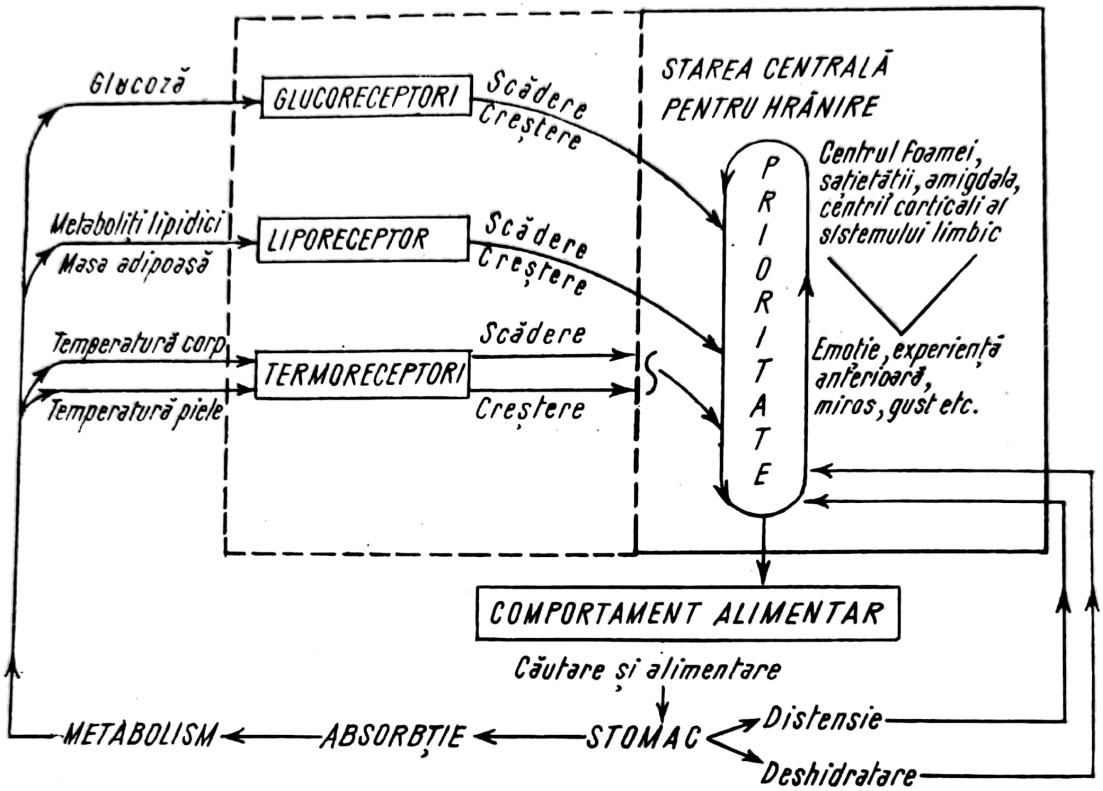


Fig. III.34. — Schema generală a mecanismelor care intervin în reglarea de scurtă durată a ingestiei de hrană (modificat după Stevenson, 215).

Se pare că în reglarea de scurtă durată a aportului alimentar, operează mecanismul glucostatic, în timp ce mecanismul lipostatic intervine în reglarea de lungă durată (1, 215). Experimente pe animale au demonstrat că volumul masei adipocitare reprezintă elementul de informaţie al formaţiunilor nervoase hipotalamice, care prin mecanismele cunoscute determină aportul alimentar crescut sau scăzut. Recent, Lepkovski (228) atribuie hipotalamusului un prim rol în reglarea aportului alimentar nu numai prin influenţarea apetitului, ci şi prin controlul exercitat la nivelul ţesutului adipos. Nu se ştie dacă aceste mecanisme intervin şi în reglarea de scurtă durată. Se discută despre un „apetit anticipativ", conform căruia omul anticipează cheltuielile energetice condiţionîndu-şi, în funcţie de aceasta, ingestia alimentară. Este vorba de un fenomen complex „condiţionat temporal" în cursul vieţii (214). Bazaţi pe aceste fapte, mai mult sau mai puţin demonstrate, s-a trecut la o interpretare cu implicaţii în patologia modernă. Astfel, se presupune că omul îşi alege din instinct alimentaţia lipidică, deoarece necesităţile vieţii moderne reclamă un dinamism crescut (214).

Scanned with OKEN Scanner

Recent (248), s-a demonstrat existența axului funcțional „entero-hipotalamo-insular" cu rol „cheie" în reglarea aportului alimentar. Este vorba în special de influența reciprocă dintre pancreasul beta-insular și hipotalamus (centrii foamei și ai saţietăţii), prin intermediul insulinemiei și ai altor factori încă neprecizaţi.

III.5.2. ROLUL SISTEMULUI NERVOS ÎN MOBILIZAREA LIPIDELOR

Sistemul nervos intervine în mobilizarea lipidelor, atît direct prin sistemul nervos simpatic și parasimpatic, cît și indirect prin influențarea secreției hormonilor cu rol în lipomobilizare.

De cea mai mare importanță pentru adaptabilitatea organismului uman, în condiţii fiziologice, la necesităţile energogene crescute, este sistemul nervos simpatic. El induce lipomobilizarea, direct prin intermediul receptorilor beta-adrenergici, sau prin intermediul catecolaminelor și al hormonilor tiroidieni (213, 214, 218—222).

Rolul jucat de sistemul nervos simpatic în lipomobilizare a fost demonstrat la animale și la om *in vivo* sau *in vitro*.

Stimulii care declanșează prompt lipomobilizarea prin intermediul sistemului nervos simpatic sînt : foamea și hipoglicemia (223), adaptarea la frig, exercițiul fizic (213). Blocajul beta-adrenergic reduce mobilizarea AGL în aceste circumstanțe, dovedind astfel rolul sistemului nervos simpatic în acest proces. În condiţii patologice, stimulii lipomobilizatori pe calea sistemului nervos simpatic sînt mai numeroși : *stress*-ul psihic, traumatismele, hemoragiile, diabetul zaharat decompensat. În aceste cazuri, receptorii periferici sînt : algoreceptorii, baroreceptorii și volumreceptorii (213). De mare importanță fiziologică și patologică este rolul jucat de glicemie. Cercetările lui Goodner și colab. (223, 224) evidențiază reglarea centrală a lipolizei sub influența glucozei plasmatice.

Așa cum s-a subliniat în capitolul II, rolul exact al sistemului nervos parasimpatic în reglarea directă a lipomobilizării nu se cunoaște.

Lipomobilizarea poate fi influențată de către sistemul nervos și indirect, prin inducerea secreției unor hormoni.

Am arătat rolul sistemului nervos parasimpatic în reglarea secreției de insulină, în cadrul unor reflexe condiționate sau necondiționate (prezența hranei în cavitatea bucală) (225, 226). Sistemul nervos simpatic, prin componenta alfa-adrenergică, inhibă secreția de insulină (227). În același sens se discută acțiunea hormonilor tiroidieni și a catecolaminelor, ca urmare a secreției lor pe cale simpatică (213).

★

În concluzie, volumul masei adipocitare și alți parametri lipidici tisulo-umorali sînt „semnale" periferice certe ; ele vor fi recepționate la nivelul sistemului nervos central, unde se va decide pe căi „directe" sau „indirecte", comportamentul alimentar, linia metabolică lipidică calitativă (ana- sau catabolism) și cantitativă, totul în funcție de necesarul energetic.

Scanned with OKEN Scanner

III.6. DINAMICA METABOLISMULUI LIPIDIC ŞI LIPOPROTEINIC ÎN FUNCŢIE DE VÎRSTĂ

Biochimia statică sau dinamică a lipidelor şi lipoproteinelor variază în funcţie de vîrstă atît cantitativ, cît şi calitativ. Această variaţie ne apare ca extrem de logică dacă raportăm rolul energogen şi plastic al lipidelor la necesităţile organismului, modificate în funcţie de etapa evoluţiei biologice. Vom prezenta, în continuare, unele aspecte legate de cele două perioade extreme : creşterea şi senectutea.

III.6.1. MODIFICĂRILE METABOLISMULUI LIPIDIC ÎN PERIOADA DE CREŞTERE

Din punct de vedere cantitativ, se remarcă creşterea conţinutului de lipide al ficatului, în funcţie de vîrstă (tabelul III.18).

Tabelul III.18

Conţinutul în lipide al organismului fetal la diferite vîrste (simplificat după 249)

Vîrsta fătului (săptămîni)	18	22	28	32	37	40
Greutatea fătului (grame)	250	500	1 000	1 500	2 500	3 500
Lipide (grame)	2	10	40	90	240	450

Din punct de vedere calitativ, lipidele fătului şi ale nou-născutului se deosebesc de lipidele copilului şi adultului, prin creşterea punctului de topire şi al gradului de saturare. Conţinutul în acid palmitic este mai mare, în timp ce conţinutul în acid stearic şi oleic este mai redus (248).

Placenta este permeabilă pentru acetat şi AGL, spre deosebire de colesterol şi fosfolipide care trec greu prin placentă (248).

Nou-născutul la termen are lipemia şi lipoproteinemia mai mici comparativ cu mama. După cîteva ore sau zile, asistăm la creşterea lor (tabelul III.19).

Activitatea LPL la nou-născut este egală cu cea a copilului de 7—17 ani.

III.6.2. MODIFICAREA METABOLISMULUI LIPIDIC ŞI LIPOPROTEINIC ÎN SENESCENŢĂ

Modificarea metabolismului lipidic şi lipoproteinic în senescenţă sînt prezentate rezumativ în tabelul III.20. Cauzele acestor variaţii sînt greu

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul III.19

Variația lipidelor serice la nou-născut și copilul de un an (simplificat după Cooke – 250)

Fracțiuni lipidice	Vîrsta	Concentrația mg %
Colesterol total (70–75% esterificat)	nou-născut	70
	peste 1 an	180
Fosfolipide	nou-născut	110
	peste un an	215
Trigliceride	nou-născut	50
	peste un an	70
AGL	nou-născut	0,3 mEq/1
	peste un an	0,7 Emq/1

Tabelul III.20.

Modificările metabolismului lipidic legate de vîrstă

Dependente de:

1. *Alterările absorbției intestinale a grăsimilor neutre prin deficiența lipazei pancreatice.*
2. *Anomalii de transport plasmatic al lipidelor:*
   - — anomalii ale suportului proteic ;
   - — anomalii ale hidrolizei plasmatice.
3. *Scăderea catabolismului lipidic:*
   - — prin metabolismul insuficient al glucozei : producere insuficientă de $NADPH_2$ (prin ciclul hexozomonofosfat) și de alfa-glicerofosfat ;
   - — prin modificări proprii ale țesutului adipos (citologice și de vascularizație) ;
   - — prin modificarea factorilor de reglare „hormonală" (scăderea acțiunii gonadelor și a axei hipofizosuprarenale), a echilibrului enzimatic (LPL, elastază, transaminaze) și vitaminic (piridoxinic în special).

Manifestate prin:

Dismetabolismul țesutului adipos

- — creșterea cantității totale de grăsimi a organismului ;
- — scăderea metabolismului țesutului gras, demonstrată de :
  - — încorporarea ^{14}C-acetatului și ^{11}C-palmitatului ;
  - — utilizarea O_2 ;
  - — scăderea reactivității la factori catabolici (adrenalină, noradrenalină, hormon de creștere).

Dismetabolismul lipidic plasmatic

- — hiperchilomicronemie ;
- — creșterea nivelului majorității fracțiunilor lipidice ;
- — alterarea curbei dinamice de încărcare lipidică.

Scanned with OKEN Scanner

explicabile în totalitate. Oricum trebuie corelate cu fizioscleroza arterială, care favorizează ateroscleroza (251).

III.7. CONCLUZII GENERALE

Integrarea metabolismului lipidic şi lipoproteinic în homeostazia energetică, raţiunea sa finală în organismul uman, este decisă de jocul dintre rezervoarele energetice şi necesităţile energetice (fig. III.35).

Formarea rezervelor energetice (trigliceride, glicogen, proteine) are loc în urma aportului alimentar, în cursul fazei anabolice a funcţiei generale metabolice. Căile prin care se realizează sînt : nervoase (sistem nervos parasimpatic) şi hormonale (insulina). Fenomenul apare în cadrul hiperaportului alimentar, sedentarismului şi hipertermiei exogene.

Mobilizarea rezervelor energetice (prin termogeneză şi travaliu) are loc în cadrul fazei catabolice a funcţiei generale metabolice, cu concursul sistemului nervos simpatic şi al hormonilor catabolici. Suprasolicitarea energetică este consecinţa carenţei alimentare, frigului, efortului fizic crescut, sarcinei, climaxului şi al hipercatabolismului general.

Deoarece mobilizarea AGL este un proces cu certe implicaţii în homeostazia energogenă, redăm în tabelul III.21. principalii factori hipo- şi hipermobilizatori de AGL de la nivelul ţesutului adipos. Etapele

Tabelul III.21

Factorii fiziologici, patologici sau experimentali care afectează lipoliza de la nivelul ţesutului adipos (modificat după Pawan—242)

Lipoliză crescută		Lipoliză scăzută
— Lipotropinele	— ciclic AMP, butiril ciclic AMP	— Insulina, factori intestinali „insulin like"
— Somatotropul	— unii nucleotizi	— Prostaglandina E_1
— ACTH, TSH, LH	— 2-dezoxi-D-glucoză	— Fosfodiesteraza
— α, β MSH	— metil xantine	— Acizii graşi intracelulari, acetoacetat, 3-hidroxibutirat, ADP, AMP
— Vasopresina	— ATP, pirofosfat, citrat	— Denervarea simpatică, agenţi antiadrenergici şi blocanţi ganglionari adrenergici, hexametacin, propranolol, pronethalol, guanetidina, reserpina
— Hormoni tiroidieni	*Stări fiziologice :*	— Acid nicotinic, ouabaina, salicilaţii
— Glucagonul	foame, dietă hipocarbohidrată, expunere la frig, stress, anxietate, stimulare simpatică	— *Stări fiziologice*
— Lactogenul placentar		Alimentaţie hipercalorică, hipercarbohidrată sau hiperglucidică, sedentarism
— Adrenalina, Noradrenalina şi alte catecolamine		— *Stări patologice*
— Glucocorticoizii	*Stări patologice*	Adrenalectomie, boli hipofizare, lipomatoză, unele lipodistrofii
	lipoatrofier difuză, boala lipoatrofică, tireotoxicoza, boala Parkinson severă, malnutriţie, inaniţie, catabolism postoperator	

Scanned with OKEN Scanner

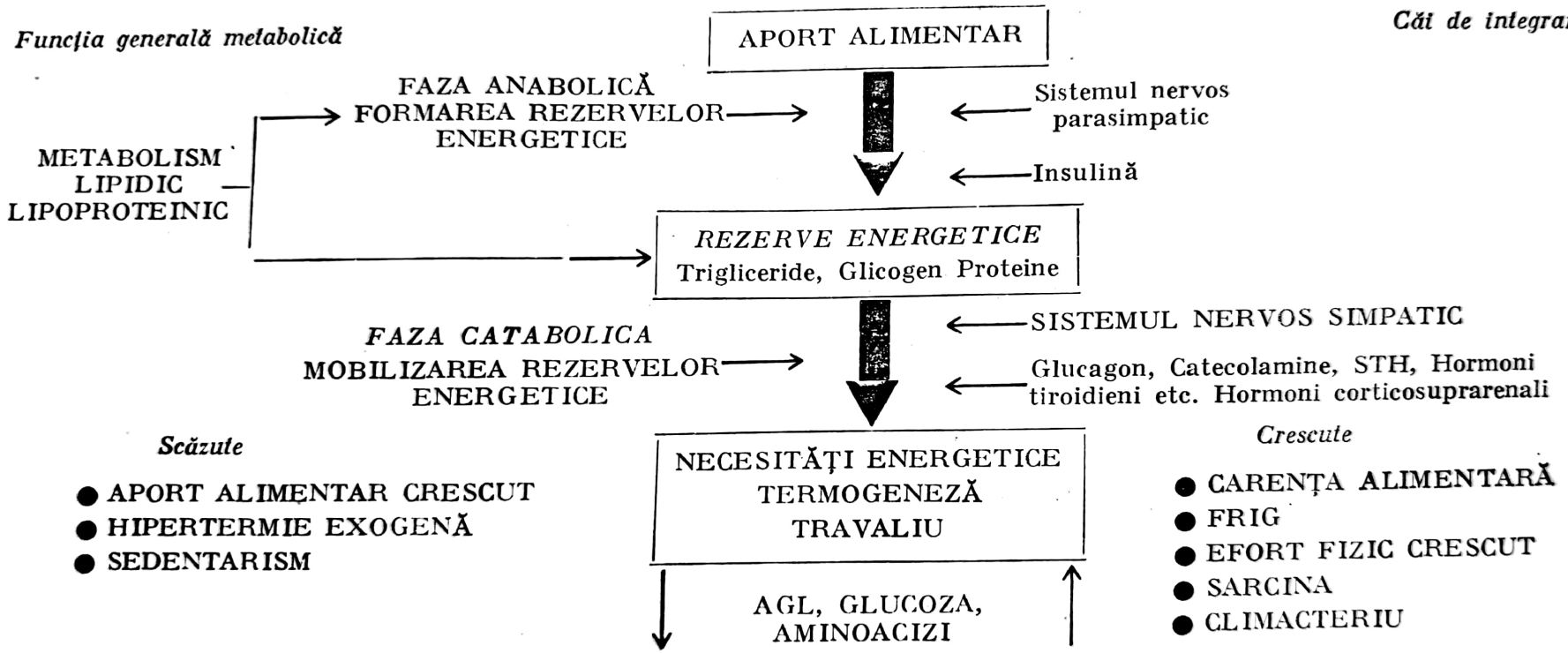


Fig. III.35. — **Schema generală a integrării metabolismului lipidic și lipoproteinic în mecanismele homeostaziei energetice.**

Scanned with OKEN Scanner

energogenazei avînd ca punct de plecare lipidele, glucidele şi proteinele alimentare, sînt redate în figura III.36.

Valoarea energetică a lipidelor exogene sau endogene rezultate în urma oxidării lor în organism, este de 9,3 cal/g, comparativ cu 4,1 cal/g în cazul glucidelor şi 4,1 cal/g în cazul proteinelor (247).

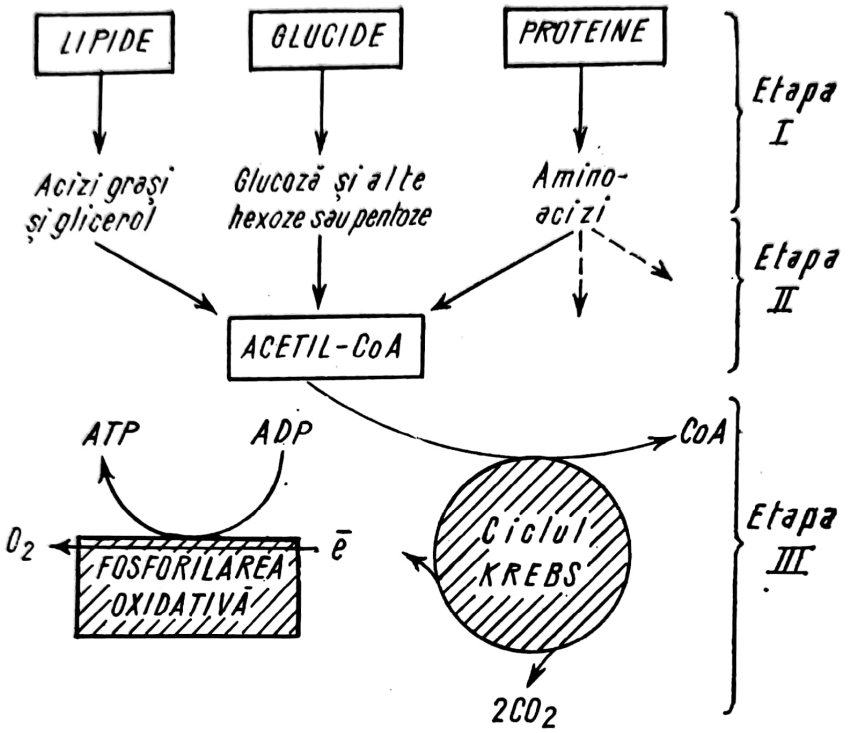


Fig. III.36. — Etapele energogenezei avînd ca punct de plecare lipidele, glucidele şi proteinele alimentare (după Stryer, 250).

Exprimată în molecule de ATP eliberate, valoarea energetică a lipidelor ne apare astfel (247) :

— producerea unei molecule de acetil CoA este însoţită şi de producerea unei molecule de $FADH_2$ şi $NADH_2$ care, introduse în lanţul oxidărilor mitocondriale, eliberează ATP (2 molecule în cazul $FADH_2$ şi 3 molecule în cazul $NADH_2$) ;

— luînd ca exemplu oxidarea completă a acidului stearic (18 atomi C) se poate efectua următoarea estimare : în helixul lui Lynnen se obţin cîte 5 molecule de ATP pentru fiecare tură oxidativă (total : $8 \times 5 = 40$ mol ATP) ; din cele 9 molecule de acetil CoA, formate şi introduse în ciclul Krebs se obţin cîte 12 molecule de ATP (total : $9 \times 12 = 108$ molecule ATP). Bilanţul energetic va fi de 147 molecule ATP (se scade o moleculă ATP folosită iniţial în amorsarea reacţiei).

Valoarea energetică a lipidelor calculată prin prisma coeficientului respirator (QR = raportul dintre CO_2 eliminat şi O_2 consumat pentru arderea unei substanţe) ne apare astfel, exemplificată prin tripalmitină :

$$C_{51}H98 + 72{,}5\ O_2 = 51\ CO_2 + 49\ H_2O$$

$$QR = \frac{51\ CO_2}{72{,}5\ O_2} = 0{,}703$$

Scanned with OKEN Scanner

În cadrul efortului energo-homeostaziant, apar mecanismele de menținere a homeostaziei glicemice, aminoacidemice, lipidice și lipoproteinice sanguine. Homeostazia lipidemică și lipoproteinemică este condiționată de necesitățile energetice momentane sau de durată, acestea la

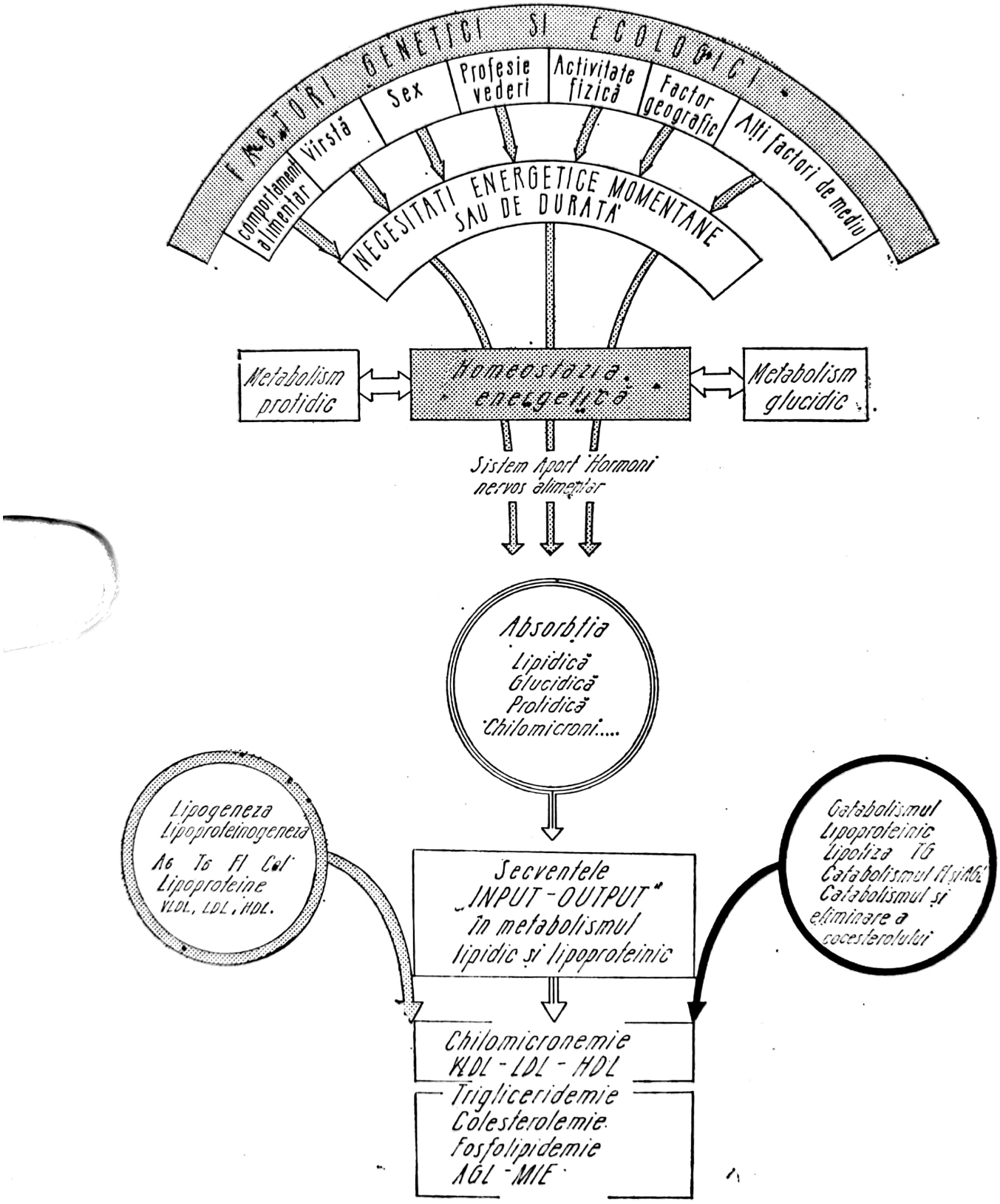


Fig. III.37. — Schema generală a mecanismelor care intervin în homeostazia lipidelor și lipoproteinelor sanguine, la om.

Scanned with OKEN Scanner

rîndul lor sînt determinate de factori genetici şi ecologici (comportament alimentar, activitate fizică, profesie, vîrstă, sex, factor geografic, alţi factori de mediu). Organismul dispune de cele 3 căi de intervenţie în metabolismul lipidic, glucidic şi proteic : sistem nervos, aport alimentar şi hormoni. Acestea sînt operante în grade variate la nivelul secvenţelor „input-output" din metabolismul lipidic şi lipoproteinic (fig. III.37). În felul acesta, este decis nivelul sanguin al chilomicronilor, VLDL, LDL, HDL, TG, AGL, colesterol şi fosfolipide. Apare extrem de logică, variaţia lor fiziologică şi patologică, în funcţie de modificarea propriilor lor parametri inductori.

REZUMAT

Metabolismul lipidic şi lipoproteinic joacă un rol covîrşitor în homeostazia energetică. Îndeplinirea acestei funcţii presupune integrarea metabolismului lipidic şi lipoproteinic în cadrul marilor funcţii ale organismului, alături de metabolismul glucidic, proteic şi hidroelectrolitic. Aceasta se efectuează fie prin corelaţii intermetabolice pure (gluco-lipido-protidice), fie prin integrarea efectelor funcţionale ale metabolismului lor.

Această defalcare didactică este fortuită, deoarece în realitate, este vorba de acelaşi proces. Căile prin care se realizează integrarea sînt reprezentate de hormoni, sistemul nervos şi alimentaţie, care acţionează pe un fond genetic determinat. Pentru realizarea acestei integrări este necesară o cinetică complexă a lipoproteinelor.

Integrarea metabolismului lipidic şi lipoproteinic este diferenţiată atît în funcţie de vîrstă, cît şi de diferite necesităţi energetice.

Scanned with OKEN Scanner

IV. METODE DE EXPLORARE A LIPIDELOR ŞI LIPOPROTEINELOR SANGUINE

I. Mincu şi Maria Georgescu

IV.1. GENERALITĂŢI

IV.1.1. IMPORTANŢA PROBLEMEI

În lipidologia clinică, explorarea lipidelor şi lipoproteinelor serice este de o importanţă covîrşitoare. Aproape că nu se poate concepe existenţa diagnosticului lipidologic fără această etapă de investigare. Iată unul din motivele pentru care, deşi monografia are un profil clinic, capitolului „de laborator", i s-a acordat o extindere remarcabilă. Un alt argument este acela, că, în ultimele două decenii progresele înregistrate în acest domeniu au fost deosebite, „revoluţionînd" chiar, sub raport conceptual şi practic lipidologia clinică. În sfîrşit, al treilea motiv pentru care am optat pentru o prezentare mai extinsă a explorării lipidelor şi lipoproteinelor serice este necesitatea standardizării pe plan naţional a metodelor de investigare lipidologică. Acesta este un acut imperativ, corelat de fapt cu cercetările de epidemiologie ce au drept scop profilaxia principalelor boli metabolice şi cardiovasculare.

Profilul clinic al lucrării noastre a modificat în oarecare măsură stilul de redactare al acestui capitol. În acest sens am optat pentru o informare conceptuală cît mai completă, chiar dacă aceasta s-a făcut în dauna detalierii tehnicilor propriu-zise de laborator. Metodele de bază pe care dorim să le recomandăm laboratoarelor din ţara noastră, au fost totuşi detaliate.

Reamintim cu acest prilej ceea ce am afirmat în capitolul introductiv : „Monografia este scrisă de clinicieni... pentru clinicieni", la care adăugăm că, deşi relaţia „clinician-laborator" este bidirecţională, cel puţin în patologia metabolică, cel care o decide sub raport calitativ şi cantitativ este clinicianul. Aceasta presupune o colaborare loială, în cadrul unei singure echipe de lucru ce are un rol dublu : diagnostic corect pe de o parte şi cercetare clinică pe de altă parte. Cu alte cuvinte activitatea laboratorului, „pleacă" şi „se întoarce" la patul bolnavului. Iată menirea pe care o acordăm acestui capitol.

Scanned with OKEN Scanner

IV.1.2. STANDARDIZAREA METODOLOGICĂ ÎN LIPIDOLOGIE (22)

Datorită importanţei pe care o au datele de laborator în diagnosticarea hiperlipoproteinemiilor, este obligatoriu ca acestea să prezinte garanţia acurateţii. Scopul standardizării este de a determina precizia şi acurateţea dozărilor şi a demonstra că dozările rămîn stabile pentru o perioadă mai îndelungată de timp. Acest lucru se realizează prin controlul de calitate. Sistemul de control al calităţii reprezintă o metodă a cărei realizare permite evaluarea curentă a muncii desfăşurate în laborator. Sistemul controlului de calitate include determinarea standardurilor primare, a probelor de control de calitate cu concentraţie cunoscută şi a probelor controlului de calitate cu concentraţie necunoscută (211).

Standardurile primare sînt soluţii avînd concentraţii cunoscute de colesterol, trioleină, fosfor, utilizate pentru dozarea colesterolului şi, respectiv, a trigliceridelor şi fosfolipidelor. Standardurile sînt tratate pe cît posibil în acelaşi fel cu probele. Modificările în valorile standardurilor constituie un semnal de alarmă pentru modificările chimice care se produc de la o dozare la alta şi care pot indica calitatea necorespunzătoare a reactivilor, sau nerespectarea procedeului de lucru. Linearitatea curbelor standard şi stabilitatea liniei de bază a reactivilor constituie criteriile majore ale controlului de calitate.

Probele controlului de calitate cu concentraţie cunoscută. Controlul de calitate presupune folosirea cu regularitate a unor probe de ser îngheţat ale controlului de calitate, obţinute din fonduri comune de ser şi ale căror concentraţii în colesterol, trigliceride, fosfolipide, lipide totale şi fracţiuni lipoproteice sînt cunoscute. Acestea permit verificarea permanentă a acurateţei dozărilor indicînd dacă valorile obţinute la un moment dat se apropie sau nu de „valoarea reală".

Determinări în dublu pe probele subiecţilor. Se face dozarea în dublu a unui anumit număr de probe de ser ale subiecţilor, în aceeaşi zi, sau la intervale de timp diferite, după care se compară variaţia valorilor obţinute prin repetarea dozărilor pe serurile subiecţilor cu variaţia manifestată de probele controlului de calitate.

De asemenea, pentru a elimina creşterile în nivelul lipidelor serice datorate unei diete necorespunzătoare sau altor factori cu influenţă asupra lor, este necesar să existe cel puţin două dozări pentru colesterol şi trigliceride ca „valori de bază" efectuate pe probe de ser recoltate la un anumit interval de timp.

Deoarece hiperlipemia presupune creşterea anormală a cel puţin uneia dintre componentele lipidice, este necesar ca limitele pentru valorile normale să fie valide, stabilite pentru un eşantion reprezentativ al populaţiei respective ; totodată se impune ca determinările să fie corelate cu tabelele de valori normale pe sexe, la diferite grupe de vîrstă, datorită legăturii strînse între aceşti factori.

Amănunte în legătură cu standardizarea metodelor de dozare a lipidelor şi lipoproteinelor vor fi date în capitolele respective.

Scanned with OKEN Scanner

Toate laboratoarele „programului de cercetare clinică a lipidelor" din S.U.A. — LRC — (234) folosesc un sistem identic de control intern şi extern de calitate, pentru a se putea stabiliza rezultatele întregului program şi a fi siguri că fiecare laborator va obţine rezultate comparabile cu cele furnizate de alte laboratoare.

La dispoziţia fiecărui laborator sînt puse standarduri primare pure în soluţie, ca şi fonduri comune de control cu conţinut cunoscut de colesterol şi trigliceride. Fiecare clinică primeşte cîte cinci soluţii de colesterol şi trioleină în izopropanol de la Laboratorul de standardizare a lipidelor (L.S.L.), CDC, Atlanta, Ga şi păstrează înregistrarea rezultatelor tuturor standardurilor.

Toate laboratoarele LRC folosesc probe de ser îngheţat pentru controlul de calitate, preparate din seruri de fond comun cu concentraţia cunoscută de colesterol şi trigliceride, determinată de LSL, CDC, Atlanta printr-o modificare a metodei Abell pentru colesterol total (1) şi printr-o modificare a metodei Carlson (58) pentru trigliceride. Probele de ser îngheţat sînt furnizate tuturor laboratoarelor de Laboratorul de standardizare a lipidelor, CDC, Atlanta, Ga. Deoarece concentraţiile de colesterol şi trigliceride sînt cunoscute, se poate verifica permanent acurateţea dozărilor în toate clinicile.

Pentru programul LRC controlul extern de calitate constă în dozarea a 6 probe pe săptămînă de către fiecare laborator, probele avînd concentraţie necunoscută de colesterol şi trigliceride şi care sînt furnizate tot de Laboratorul de standardizare a lipidelor, CDC, Atlanta.

Periodic, datele controlului de calitate se transmit la Centrul de coordonare Chapel Hill, Carolina de Nord şi Laboratorul de standardizare a lipidelor care apreciază rezultatele.

IV.2. RECOLTAREA ŞI PĂSTRAREA SÎNGELUI; EXTRACŢIA LIPIDELOR

IV.2.1. RECOLTAREA MOSTRELOR DE SÎNGE

Condiţii de recoltare. Studiile întreprinse asupra nivelului lipidelor şi lipoproteinelor serice, în legătură cu hiperlipemia ca factor de risc coronarian, au arătat că acestea suferă variaţii mari de la un individ la altul în cadrul unei populaţii date, dar şi la acelaşi individ dozările succesive au evidenţiat variaţii diurne şi sezoniere în funcţie de o serie de factori. Numărul mare al factorilor biologici cu influenţă asupra nivelului lipidelor şi lipoproteinelor serice a impus necesitatea de a standardiza condiţiile de prelevare a probei de sînge, ceea ce asigură o reducere a efectului acestor factori.

Se recomandă ca recoltarea să se facă după o perioadă de post riguros, de obicei dimineaţa, eliminîndu-se în acest fel efectul hranei ingerate asupra nivelului trigliceridelor serice (22, 169). Cu privire la

Scanned with OKEN Scanner

ordinul de mărime al intervalului de post, majoritatea autorilor sînt de acord că acesta trebuie să fie de 12—14 ore (19, 22, 24). Lucrări mai recente, care au avut ca obiect studiul nivelului lipidelor şi lipoproteinelor la diferite intervale de timp după ingestia alimentelor, reduc intervalul de post obligatoriu. În acest sens, Gennes şi Turpin (101) consideră că în mod arbitrar s-a ales intervalul de 12 ore deoarece dozarea lipidelor efectuată sistematic la subiecţii normali a evidenţiat că revenirea la nivelul de bază se produce la numai 8 ore după ingestia unui prînz care aduce un aport caloric de 1 500 calorii. Durata şi gradul „hiperlipemiilor alimentare" are anumiţi indici la subiecţii normali, dar sînt adesea exagerate în stările hiperlipemice. Probele pe termen scurt, cu încărcări selective de grăsimi, zaharuri şi alcool au arătat că la subiecţii normali valoarea colesterolului total rămîne aproape constantă, în timp ce trigliceridele cresc puţin şi revin la normal înainte de 8 ore. Se ştie că după o perioadă de post relativ, cuprinsă între 8 şi 10 ore, chilomicronii sînt prezenţi în sînge numai în mod inconstant, deoarece fiind de origine intestinală, ei transportă îndeosebi trigliceridele exogene, dar sînt hidrolizaţi şi dispar din circulaţie în cursul perioadei postprandiale. Starea de post trebuie să fie controlată prin chestionare şi cu ajutorul observării serului după un repaus de 20—24 de ore la 4—5°. Cînd există opalescenţă flotantă care sugerează chilomicronemia, subiecţii trebuie să fie rechemaţi pentru o nouă recoltare a probei de sînge, după reînnoirea instrucţiunilor asupra postului. În acest fel, se elimină hiperlipemiile de origine alimentară.

Alţi autori recomandă ca recoltarea să se facă la cel puţin 3 ore după un mic dejun uşor, lipsit de grăsimi, aceasta nefiind considerată ca o probă de post ci, mai degrabă, postabsorbtivă, lucru dovedit de faptul că nu se înregistrează prezenţa lipemiei.

Deoarece dieta obişnuită are o influenţă considerabilă asupra nivelului lipidelor şi lipoproteinelor plasmatice, atît la subiecţii normali, cît mai ales la cei hiperlipoproteinemici, îndeosebi prin ingestia calorică din grăsimi şi zaharuri, devine obligatoriu să se recomande menţinerea unui regim echilibrat în timpul celor 7—8 zile care preced recoltarea. Schimbările în dieta obişnuită, cum ar fi o ingestie calorică modificată prin modificarea raţiei lipidice şi glucidice, se reflectă în nivelul lipidelor şi lipoproteinelor care se modifică temporar sau permanent. Este foarte important ca balanţa calorică să fie menţinută constantă şi să nu se recolteze pacienţilor supuşi la regim, în special celor cu dietă restrictivă globală care determină pierderi mai accentuate în greutate. În vederea clasificării hiperlipoproteinemiilor pe baza electroforezei, pacientul trebuie să primească o dietă nemodificată timp de o săptămînă, deoarece o dietă neechilibrată poate modifica tabloul lipidic şi lipoproteinic (19). De exemplu : un regim izocaloric (cu aport de lipide sub 5 g/24 de ore, deci hiperglucidic) determină la pacienţii cu hiperlipoproteinemie tip I dispariţia rapidă a chilomicronilor ; hipertrigliceridemia scade, fără însă a dispărea complet ; apare o bandă prebeta intensă, legată de aportul masiv de glucide (19). Creşterea raţiei glucidice în hiperlipoproteinemiile tip III are ca urmare o creştere a trigliceridelor

de 4 ori mai mare decît în cazul dietei echilibrate, pe cînd un regim alimentar hipocaloric determină o diminuare semnificativă a nivelului trigliceridelor şi colesterolului pînă la normalizarea profilului lipidic.

În perioada dinaintea recoltării se suprimă ingestia de alcool. De asemenea, dacă este posibil, se recomandă renunţarea la medicamente, cu 3—4 săptămîni înainte de recoltare, cu menţiune specială pentru agenţii hipolipidemici discontinui, cum sînt: estrogenii (62), inclusiv anticoncepţionalele orale (154), steroizii.

Deoarece nivelul lipidelor sanguine este influenţat de starea de sarcină, trebuie stabilit dacă pacientele sînt însărcinate (249).

Obţinerea mostrelor de sînge. În timpul recoltării, subiecţii trebuie să fie în repaus în poziţie „şezînd" sau, de preferinţă, în poziţie „culcat" care dă valorile de bază ale lipidelor şi lipoproteinelor plasmatice. Trecerea pacienţilor de la poziţia „culcat" la poziţia „în picioare" se reflectă în concentraţia lipoproteinelor printr-o creştere de aproximativ 10% (22, 234). Este necesar să se standardizeze condiţiile de recoltare în ceea ce priveşte poziţia, dar şi intervalul de timp în poziţie „şezînd" sau „culcat" înainte de venopunctură. Poziţia „şezînd" care este folosită mai frecvent, ridică unele probleme legate de standardizarea intervalului de timp pînă la recoltare, deoarece în acest caz poziţia de aşteptare se suprapune uneori peste poziţia de recoltare. Pentru un subiect dat, în timpul experimentului dat, este obligatoriu să se menţină constante împrejurările de recoltare.

Sîngele se recoltează dintr-o venă antecubitală, sau din oricare venă convenabilă a braţului. Folosirea garoului este obligatorie, dar limitată la perioada de evidenţiere şi puncţionare a venei, după care se înlătură, deoarece unii autori, printre care Page şi Moinuddin (166) au comunicat creşteri importante în concentraţia lipidelor plasmatice ca rezultat al aplicării prelungite a garoului. Uneori însă, e dificilă obţinerea unui curs corespunzător al sîngelui fără aplicarea continuă a garoului.

Recoltarea probei de sînge trebuie făcută în condiţii optime, evitîndu-se venostaza, deoarece s-a comunicat o creştere a colesterolului total de 10—15% datorită stazei produse în timpul recoltărilor deficitare (22, 234). Trebuie acordată o atenţie deosebită pentru a se evita formarea hematomului.

Detaliile tabloului clinic sînt foarte importante, îndeosebi pentru stabilirea apartenenţei hiperlipoproteinemiilor din punct de vedere etiologic, dar şi pentru că un infarct miocardic sau alt episod traumatic similar pot accentua sau reduce hiperlipemia, în funcţie de intervalul scurs şi tipul de hiperlipoproteinemie incriminat. De exemplu, infarctul miocardic acut este urmat de o scădere a colesterolului plasmatic şi a fracţiunii LDL cu 25—50% (22). Din aceste motive se recomandă investigarea hiperlipoproteinemiilor după 4—8 săptămîni de la accidentul vascular.

În literatura de specialitate sînt publicate modele de tablouri clinice care trebuie să însoţească proba de sînge şi care sînt indispensabile

Scanned with OKEN Scanner

omului de laborator, în stabilirea tipurilor de hiperlipoproteinemie. În laboratorul nostru a fost adoptat următorul model de tablou clinic, adaptat după modelul prezentat de Davignon, Langelier şi Sobolewski (67, 114) :

— sexul şi vîrsta ;

— înălţimea şi greutatea ;

— detaliile tabloului clinic şi istoria familială (antecedente cu diabet, gută, obezitate) ;

— tipul dietei şi modificările majore în greutate, în zilele care preced recoltarea ;

— recoltarea probei dimineaţa, după un post de aproximativ 12 ore ;

— obezitate, diabet chimic, gută, care sînt asociate cu anumite tipuri de hiperlipoproteinemie ;

— medicaţia, îndeosebi cea cu acţiune asupra nivelului de lipide (medicamente hipolipemiante, agenţi hipolipemianţi discontinui) (62) ;

— ingestia excesivă de alcool, care poate determina sau accentua hipertrigliceridemia ;

— manifestările de ateroscleroză şi precocitatea apariţiei ei ;

— elemente care ar putea masca hiperlipoproteinemiile cum sînt : afecţiunile hepato-celulare, pierderile recente în greutate, hipertiroidismul, medicamentele hipolipemiante, intervenţiile chirurgicale recente, anemia cronică, bolile debilitante, infarctul miocardic.

Recoltarea sîngelui trebuie făcută cu multă atenţie pentru a se evita hemoliza care interferă cu multe determinări (43). Hemoliza poate fi minimalizată, sau chiar eliminată prin utilizarea unor seringi curate şi eventual uscate, a unor ace curate şi nu prea subţiri, prelevarea sîngelui încet (nu mai repede decît se umple vena), evitarea intrării bulelor de aer cu formare de spumă şi, după ce sîngele a fost recoltat, prin îndepărtarea acului şi apoi golirea seringii în eprubetă, din nou cu atenţie şi fără presiune.

Pregătirea recipientelor cu sînge. Dozările pentru lipide şi lipoproteine se pot efectua atît în plasmă, cît şi în ser.

Serul diferă de plasmă numai prin pierderea fibrinogenului proteic, care este îndepărtat sub formă de reţea insolubilă de fibrină în procesul de coagulare (107). Pentru obţinerea serului, sîngele total recoltat prin venopunctură este transferat imediat din seringă, direct în eprubete de sticlă obişnuite şi lăsat la temperatura camerei sau într-un termostat la 37°C pînă ce se formează cheagul şi acesta începe să se retracteze (215). Închegarea sîngelui, înainte ca elementele celulare să fie separate de ser, simplifică îndepărtarea acestora şi, în acelaşi timp, îndepărtează fibrinogenul din ser. Pentru accelerarea retracţiei, cheagul poate fi desprins uşor de pe peretele eprubetei cu o baghetă subţire de sticlă sau cu un ac de platină. La sfîrşitul intervalului de 2—6 ore, cheagul este desprins cu grijă şi îndepărtat sau reţinut cu ajutorul baghetei în eprubeta respectivă, făcîndu-se transferul serului într-o eprubetă de centrifugă. Dacă vrem să evităm această perioadă de aşteptare, serul se poate obţine mult mai repede prin defibrinarea atentă a sîngelui ime-

Scanned with OKEN Scanner

diat după recoltare, înainte de închegare, cu ajutorul unei baghete de sticlă sau a unor mărgele de sticlă. Acest procedeu a dus la rezultate remarcabile în studiul modelelor lipoproteinelor umane şi în numeroase studii asupra aterogenităţii nivelurilor de lipoproteine (162, 233, 234).

Deşi elimină necesitatea folosirii anticoagulanţilor evitînd astfel diluarea serului, avînd şi avantajul că îndepărtează fibrinogenul, această metodă are unele inconveniente, printre care şi faptul că nu blochează colesterol-aciltransesteraza sanguină a cărei activitate alterează unele modele ale lipidelor serice, cum ar fi cele ale colesterolului şi esterilor lui, precum şi cele pentru lecitină-lisolecitină. Din aceste motive, unii autori consideră folosirea serului ca o metodă necorespunzătoare în studiile moderne asupra lipidelor şi lipoproteinelor şi recomandă folosirea plasmei în cercetările asupra nivelului lipidelor şi lipoproteinelor. Pentru obţinerea plasmei, probele de sînge pot fi puse în eprubete de centrifugă din sticlă sau material plastic, curate şi sterile, care conţin un anticoagulant corespunzător. Transferul trebuie făcut fără întîrziere şi desăvîrşit prin agitarea imediată şi completă dar, în acelaşi timp, blîndă, a eprubetei, aşa încît să aibă loc distribuirea uniformă a anticoagulantului în toată proba de sînge. În caz contrar, se produce coagularea în straturile superioare ale probei de sînge, care nu vin în contact cu anticoagulantul, îndeosebi cînd se recoltează cantităţi mari. Procedeul de siliconare, care previne coagularea şi face sîngele apt pentru studii morfologice şi cantitative, deoarece previne fragmentarea elementelor celulare ale sîngelui în urma contactului cu pereţii eprubetei, nu este util în cazul dozărilor de lipide, întrucît uleiul de silicon este solubil în solvenţi organici şi poate influenţa determinările (183).

Cei mai comuni anticoagulanţi sînt : citratul trisodic, amestecul oxalat de amoniu-oxalat de potasiu (6 : 4), acidul etilendiaminotetraacetic (EDTA) şi heparina. Primii trei previn coagularea prin îndepărtarea calciului din plasma sanguină, prin precipitare sau legare în forme neionizate, în timp ce heparina împiedică coagularea prin acţiunea sa asupra trombinei pe care o neutralizează. În studiile recente asupra lipidelor şi lipoproteinelor, anticoagulanţii cei mai frecvent folosiţi sînt EDTA (1—2 mg/l ml sînge) şi heparina (0,1—0,2 mg/l ml sînge) care, faţă de ceilalţi anticoagulanţi, au unele avantaje ; EDTA blochează ionii metalici bivalenţi care catalizează autooxidarea acizilor graşi nesaturaţi din sînge, iar heparina are efect redus, sau nul, asupra lipidelor sanguine şi, în plus, este considerată ca cel mai bun anticoagulant pentru prevenirea hemolizei (111).

Cînd recoltarea celor 10—15 ml sînge necesari pentru efectuarea dozărilor incluse în filmul lipidic se face cu seringi mari, acestea pot fi heparinizate chiar înainte de recoltare. După extragerea sîngelui venos se agită seringa cu atenţie, apoi se face transferul sîngelui în eprubete de centrifugă. În ultimul timp se folosesc tot mai mult eprubete şi vase din material plastic pentru manevrarea şi păstrarea probelor de sînge, întrucît contactul sîngelui cu peretele de plastic este mai puţin dur decît cu cel de sticlă şi se evită distrugerea eritrocitelor.

Scanned with OKEN Scanner

Pentru a se evita autooxidarea produsă pe cale enzimatică în sîngele total, fenomen care duce la erori în determinarea nivelului de lipide şi lipoproteine, se recomandă fie răcirea sîngelui în timpul prelevării sau imediat după prelevare, pentru a împiedica activitatea enzimelor, fie folosirea antioxidanţilor. În primul caz, seringile şi eprubetele de centrifugă se păstrează într-o baie cu gheaţă ; se reduc timpii de manipulare a acestora la temperatura camerei şi imediat după prelevarea sîngelui, eprubetele se reintroduc în baie. Folosirea antioxidanţilor nu este necesară dacă sîngele este păstrat la temperaturi sub 10°C pînă la determinare, mai ales dacă recoltarea a fost făcută pe EDTA ca anticoagulant. Antioxidanţii protejează lipidele de degradare, nu însă şi proteinele. Unii autori (233) recomandă adăugarea antioxidanţilor (de exemplu, tocoferol) în solvenţii de extracţie ai lipidelor, în cazul tehnicilor laborioase care necesită manevre îndelungate.

Separarea plasmei sau serului de hematii. Indiferent dacă determinările se fac utilizînd plasmă sau ser, acestea sînt supuse, într-o etapă următoare, centrifugării pentru îndepărtarea elementelor celulare ale sîngelui. Probele mai mici de 15 ml sînt supuse centrifugării în eprubete obişnuite de centrifugă, iar probele cu volum mai mare pot fi prelucrate în eprubete din material plastic de 40 ml. În general, se recomandă folosirea unor centrifugi cu răcire la 10°—4°, deoarece în timpul centrifugării se dezvoltă căldură care aduce probele la temperaturi dăunătoare, situaţie agravată şi de durata centrifugării. Forţa centrifugă necesară pentru sedimentarea eritrocitelor variază între 800 şi 1 000 g, dar, nefiind prea mare, impune o perioadă îndelungată de centrifugare pentru separarea completă (112). La viteze mari se reduce timpul de centrifugare (261), în schimb forţa centrifugă, fiind foarte mare, determină temperaturi nepermise.

Se consideră că o separare corespunzătoare scopurilor noastre se produce prin centrifugare la 2 000 r.p.m. timp de 20 de minute într-o mică centrifugă clinică sau o centrifugă model Janezki (112).

S-a constatat că o centrifugare la viteză mică care are drept rezultat îndepărtarea celor mai multe eritrocite şi leucocite, urmată de o centrifugare la viteze mai mari pentru îndepărtarea plachetelor şi fragmentelor acestora, este mai eficientă decît o singură centrifugare la viteză constant mare. Totuşi, deoarece plachetele sau resturile lor nu afectează semnificativ dozările de lipide şi lipoproteine s-a dedus că o singură centrifugare este suficientă pentru sedimentarea elementelor sanguine din plasmă sau ser, cu condiţia ca forţa centrifugă şi timpul de centrifugare să fie adecvate (162).

După centrifugare, plasma sau serul sînt separate imediat de hematii folosind o pipetă Pasteur cu pară de cauciuc. Pipeta trebuie să aibă dimensiuni corespunzătoare, astfel încît plasma să nu pătrundă în para de cauciuc. În eprubete curate, se transferă numai serul sau plasma, fără stratul de leucocite.

Scanned with OKEN Scanner

IV.2.2. PĂSTRAREA SÎNGELUI TOTAL, A PLASMEI SAU SERULUI

Sîngele total poate fi păstrat numai un timp limitat la temperaturi scăzute, fără însă a se permite îngheţarea, care face sîngele nefolositor. Îngheţarea urmată de dezgheţare are ca principal rezultat distrugerea totală a hematiilor şi denaturarea proteinelor plasmatice. Limita de temperatură admisă pentru păstrare este de 0°, întrucît se ştie că la această temperatură reacţiile enzimatice nu sînt blocate ci doar încetinite. Din cauza hemolizei care se produce după prelevarea sîngelui (43), permanentizată de absenţa *in vitro* a mecanismului de *clearence,* care asigură în organism îndepărtarea hemoglobinei libere şi a fragmentelor de hematii, sîngele conservat devine contaminat cu hemoglobină liberă, pigmenţi, lipide şi lipoproteine în diferite stadii de denaturare. Păstrarea sîngelui total la temperaturi scăzute nu este recomandabilă, chiar în cazul adăugării conservanţilor (soluţie izotonică de dextroză-citrat). În prezenţa conservanţilor (glicerol, dimetilsulfoxid), care au rolul de a menţine hematiile viabile prin prevenirea formării cristalelor de gheaţă, sîngele poate fi păstrat la temperatura de îngheţ (179).

În cazul sîngelui total recoltat pe anticoagulant, fără adăugare de glucoză ca sursă energetică, limita de păstrare a sîngelui pentru determinări de lipide şi lipoproteine este de numai cîteva zile datorită pierderii lipidelor din hematii, fenomen aparent independent de metabolismul energetic al celulei, deoarece nu există un raport direct între acesta şi descreşterea adenozintrifosfatului, sau creşterea intracelulară a ionilor de sodiu. Cînd se urmăreşte o dozare riguroasă a lipidelor şi lipoproteinelor, nu se admite păstrarea sîngelui total înainte de extracţia lipidelor, din cauza riscului inducerii unor modificări de către conservanţi sau de temperaturile scăzute care falsifică rezultatul dozărilor biochimice.

Cel mai bun procedeu de conservare a sîngelui constă în separarea hematiilor din plasmă sau ser imediat după recoltare şi păstrarea în stare îngheţată, care are avantajul că oferă o bună protecţie lipidelor componente, deoarece plasma are proprietăţi antioxidante (181). Păstrarea plasmei sau serului în stare îngheţată este posibilă pentru un timp îndelungat, cu condiţia ca acestea să fie folosite exclusiv pentru dozările de lipide ; acest procedeu nu este admis în investigarea lipoproteinelor fiindcă proteinele plasmatice nu se conservă în stare naturală la —20°C, din care cauză fracţiunile lipoproteice izolate sînt labile ; şi nici în studiul metabolismului lipidelor şi lipoproteinelor care suferă unele modificări.

IV.2.3. TRANSPORTUL PROBELOR DE PLASMĂ SAU SER PENTRU DOZAREA LIPIDELOR ŞI LIPOPROTEINELOR

Probele de plasmă sau ser care vor servi la determinarea lipidelor pot fi transportate într-o baie de gheaţă uscată.

Scanned with OKEN Scanner

Deoarece probele de plasmă sau ser necesare pentru determinarea lipoproteinelor nu pot fi înghețate, se asigură transportul lor într-un înveliș protector de Styrex spongios așezat între două pungi de plastic care conțin gheață pisată. Pungile cu gheață sînt așezate în containere separate de transport.

IV.3. EXTRACŢIA LIPIDELOR DIN PLASMĂ SAU SER

IV.3.1. PROCEDEE DE EXTRACŢIE

Dacă nu este posibilă efectuarea dozărilor de lipide în ziua recoltării sau în zilele imediat următoare, se recomandă să se limiteze păstrarea sîngelui total și a serului sau plasmei numai la strictul necesar, iar probele să fie supuse extracției în cel mai scurt timp posibil. Deoarece multe lipide nu sînt total solubile în solvenți, ca : metanol, etanol, acetonă, se recomandă combinarea acestora cu un solvent mai puțin polar, cum ar fi eterul de petrol, dietilul eter, cloroformul (200). În general, extracția lipidelor se realizează prin folosirea unor sisteme de solvent ca etanol-eter, acetonă-etanol, metanol-hexan, izopropanol-cloroform. Diferitele tehnici de extracție diferă prin sistemul de solvenți ales, iar în cazul aceluiași sistem de extracție diferitele variante ale metodelor se deosebesc prin raportul solvent : probă de ser, prin proporția componentelor sistemului binar de solvenți și ordinea adăugării lor la extracție. Unii autori recomandă adăugarea solvenților la proba de ser, alții recomandă adăugarea serului încet în unul din solvenți, sau în sistemul binar de solvenți, însoțită de agitare energică și continuă pentru a permite extracția totală a lipidelor și a împiedica blocarea acestora în interiorul aglomerărilor formate de proteine. După aceea se aduce soluția la temperatura de fierbere, pentru precipitarea proteinelor, iar după răcire, la temperatura camerei, se face filtrarea pentru îndepărtarea precipitatului proteic. Acest procedeu determină extracția cantitativă a serului, însă temperaturile ridicate favorizînd autooxidarea și degradarea lipidelor, etapa de încălzire poate fi omisă. Pentru minimalizarea autooxidării se mai poate recomanda adăugarea antioxidanților și efectuarea extracției sub curent de azot.

Uneori, extracțiile repetate sînt mai eficiente decît o singură extracție de lipide serice sau plasmatice.

Filtrarea extractelor lipidice se poate face prin filtre de hîrtie spălate în prealabil cu solvent, pentru îndepărtarea substanțelor solubile în apă din compoziția hîrtiei sau a substanțelor contaminante organice (262). Sînt însă de preferat, filtrele de sticlă care pot fi bine întreținute prin spălare cu acid și solvent, eliminînd astfel posibilitatea contaminării extractelor cu alte substanțe.

Scanned with OKEN Scanner

Amestecurile de metanol-cloroform 1 : 2 (v/v) și etanol-dietileter 3 : 1 (v/v) sînt considerate ideale pentru extracția lipidelor serice din cauza maximei lor eficacități (87, 88).

IV.3.2. PURIFICAREA EXTRACTELOR LIPIDICE

Majoritatea sistemelor de solvenți extrag o dată cu lipidele și o mare cantitate de substanțe nelipidice care, în cazul cînd nu se face purificarea extractelor, pot interfera în reacția de culoare. Substanțele nelipidice contaminante sînt reprezentate îndeosebi prin substanțe solubile în apă : aminoacizi, zaharuri, săruri anorganice. Unele dintre acestea (acetat de magneziu, acetat de potasiu) fiind solubile și în unii solvenți organici, cum ar fi cloroformul, amestecul metanol-cloroform, pot fi îndepărtate numai prin spălări repetate cu apă, deoarece solubilitatea mai mare în apă determină trecerea lor în faza apoasă (217). Fosfolipidele au un rol important în contaminarea extractelor lipidice, datorită capacității lor de solubilizare a multor componente nelipidice : steroli, esteri de sterol, uree, aminoacizi liberi (deși în parte se atribuie contaminarea solubilității acestor substanțe în solvenții folosiți pentru extracția lipidelor). Un rol similar fosfolipidelor, în ceea ce privește extractibilitatea, se atribuie carotenoizilor prezenți în lipoproteinele cu densitate joasă și foarte joasă.

Studiile experimentale au evidențiat prezența unei cantități neobișnuit de mari de substanțe nelipidice în extractele de metanol-cloroform. Cu toate că alte sisteme binare de extracție, cum sînt sistemul izopropanol-cloroform sau etanol-eter, dau extracte lipidice contaminate în mai mică măsură cu alte substanțe, se recomandă înlăturarea contaminanților nelipidici prin dizolvări repetate ale probei în solvenți organici și spălarea cu apă a extractelor lipidice (30, 200). Această tehnică specială de spălare prin procedeul de partiție a solvenților are dezavantajul pierderii unei cantități de lipide în faza apoasă, dar este încă larg întrebuințată datorită accesibilității și reproductibilității (87, 88). Alte metode de înlăturare a produșilor nelipidici, de exemplu, dializa lipidelor emulsionate, sînt aplicabile numai anumitor lipide.

Procedeele moderne pentru îndepărtarea cantitativă a contaminanților nelipidici constau în cromatografia pe dietilaminoetilceluloză schimbătoare de ioni și cromatografia de partiție pe coloană din gel de dextran (Sephadex) care separă cantitativ substanțele nelipidice de lipide. Sephadexul are, față de celuloză, avantajul unei separări mai complete și mai reproductibile (263).

Tratarea solvenților. Solvenții folosiți în extracția lipidelor trebuie să fie foarte puri, din care cauză se recomandă redistilarea solvenților „pro analisi". Dacă se folosesc acești reactivi fără redistilare, este obligatorie determinarea reziduului uscat nevolatil, rezultat în urma evaporării unei cantități standard de solvent în anumite condiții. Un reziduu redus cantitativ indică calitatea bună a solvenților respectivi în dozările de lipide. Cînd este necesară cunoașterea naturii impurităților, se recurge

Scanned with OKEN Scanner

la cromatografierea extractului hexanic al reziduului, urmată de aprecierea vizuală a cromatogramei care ne indică dacă solventul poate fi folosit în dozările de lipide. În dozările riguroase de lipide se recomandă trecerea unui curent de azot gazos peste solvent înainte de folosire, aceea ce asigură înlăturarea aerului şi, ca măsură suplimentară, adăugarea unui antioxidant cum ar fi hidroxitoluenul butilat. Datorită susceptibilităţii lipidelor şi lipoproteinelor de a fi oxidate, îndeosebi a acizilor graşi nesaturaţi, solvenţii organici trebuie să fie trataţi pentru îndepărtarea oxigenului dizolvat.

Evaporarea solvenţilor. Deoarece evaporarea „la uscat" a extractelor lipidice este însoţită de deteriorarea lipidelor datorată contactului direct al lipidelor cu suprafaţa sticlei, îndeosebi a fosfatidiletanolaminei şi fosfatidilserinei, care se descompun rapid, se recomandă evaporarea incompletă a solvenţilor organici, la temperaturi şi presiuni reduse (264). Solvenţii hidrocarbonaţi şi clorinaţi-hidrocarbonaţi pot fi îndepărtaţi prin evaporare într-o pompă de vid, situată de obicei într-o baie de apă cu temperatura de 0—15°C. Pompa de vid este ataşată la o trompă de vid (182).

Solvenţii cu temperatură de evaporare mai ridicată, de tipul alcoolului etilic, pot fi îndepărtaţi prin diluţii repetate cu cloroform, urmate de evaporări repetate.

Temperaturile ridicate au efect distructiv asupra unor lipide. Din această cauză este preferabilă evaporarea la temperaturi mai scăzute, asociată cu prelungirea timpului de evaporare.

După evaporarea solvenţilor pînă la volumul minim necesar de extract lipidic, se face transferul probei în recipientul de păstrare, care poate fi un cilindru de sticlă cu dop sau, mai frecvent, o eprubetă gradată cu dop.

Condiţiile optime pentru manipularea şi păstrarea lipidelor extrase variază cu natura probei. Diferitele procedee folosite în timpul păstrării şi, mai ales, a manevrelor din timpul dozărilor biochimice, pot afecta semnificativ rezultatele.

Activarea unor enzime lipolitice în prezenţa unor solvenţi organici folosiţi în extracţie, păstrarea mai îndelungată a probelor de lipide în solvenţi polari, evaporarea la uscare, îndeosebi la temperaturi ridicate, concentrarea extractelor sub curent de aer şi tipul de coloană de separare pot duce la erori prin modificarea compoziţiei lipidelor şi a nivelului de acizi graşi nesaturaţi. Din aceste motive, se recomandă folosirea unui număr de extracţii repetate de scurtă durată la temperatura camerei, fără concentrare ulterioară a probei şi determinarea imediată a conţinutului lipidic.

IV.3.3. TRATAREA RECIPIENTELOR

În dozările de lipide se folosesc numai recipiente de sticlă fără dopuri sau alte părţi componente din cauciuc sau plută, care pot constitui surse de contaminanţi solubili în solvenţii de extracţie. Spălarea acestora se face în general cu detergenţi, în care caz este necesară spălarea

Scanned with OKEN Scanner

îndelungată sub curent de apă de robinet, finalizată prin spălări repetate cu apă distilată pentru îndepărtarea completă a detergentului. Această precauţie devine obligatorie în dozarea fosfolipidelor, deoarece mulţi detergenţi conţin fosfat anorganic. Pentru a se evita contaminarea probelor cu fosfor anorganic provenit din detergent, concretizată în creşterea blankului reactivilor, unii autori recomandă curăţirea sticlăriei destinate dozărilor de lipide cu amestec oxidant, care este apoi îndepărtat prin spălări insistente cu apă de robinet şi apoi cu apă distilată.

Păstrarea mai îndelungată a sticlăriei curate în condiţii obişnuite de laborator poate duce la contaminarea acesteia cu o peliculă fină de hidrocarbonat. Pentru a evita impurificarea probelor, se recomandă spălarea sticlăriei curate cu cloroform chiar înainte de folosire, sau păstrarea sticlăriei într-un recipient curat de polietilen.

IV.4. DETERMINAREA LIPIDELOR ÎN SÎNGE

IV.4.1. DOZAREA COLESTEROLULUI

În ultimul timp, problema dozării colesterolului şi a fracţiunilor sale a constituit obiectul a numeroase lucrări cu caracter general în care s-a încercat, prin comparare, evaluarea celor mai importante metode şi a variantelor lor, constatîndu-se că nici o metodă nu este suficient de satisfăcătoare, datorită dificultăţii de a asocia simplitatea cu specificitatea.

Există în prezent sute de metode de dozare a colesterolului care, în esenţă, pot fi clasificate astfel :

— metode cromatografice (J. Hirsch, E. H. Ahrens, *J. Biol. Chem.*, 1958, 233, 311) ;

— metode fluorimetrice (R. W. Albers, O. H. Lowry, Analyst. Chem., 1955, 27, 1829) ;

— metode spectrofotometrice în infraroşu (N. K. Freeman, J. Lipid Res., 1964, 5, 236) ;

— metode turbidimetrice în prezenţa digitoninei (P. Velu, M. Velu, *Ann. Biol. clin.*, 1957, 1—2, 89) ;

— metode colorimetrice, care sînt cele mai accesibile.

Dozarea colesterolului presupune în general 4 etape :

1. Extracţia colesterolului din plasmă sau ser cu ajutorul unui solvent organic. Se ştie că colesterolul plasmatic, liber sau esterificat, este totdeauna asociat cu diferite proteine plasmatice, circulînd în plasmă sub formă de lipoproteine (îndeosebi beta-lipoproteine). Pentru extracţie este necesară ruperea legăturii colesterolului cu proteina vehiculantă.

2. Saponificarea fracţiunilor esterificate pentru eliberarea colesterolului în formă liberă.

3. Izolarea colesterolului prin digitonină care, combinîndu-se cu funcţia alcoolică secundară din poziţia 3, dă împreună cu colesterolul un compus insolubil.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul IV.1

Clasificarea principalelor metode fotometrice de dozare a colesterolului

Etapele principale ale dozării	Metodele cele mai frecvent folosite	Surse de eroare	Valoarea metodelor
1.a) Extracție b) Saponificare c) Izolarea digitoninei d) Reacția de culoare	Schönheimer și Sperry (191) Sperry și Webb (201) Galloway (97); Colman și McPhee (244) Brown (41)	Numărul mare de operațiuni în cursul cărora se pot produce pierderi de colesterol	Sînt considerate metode de referință pentru dozarea colesterolului total și a colesterolului neesterificat
2.a) Saponificare b) Extracție c) Reacția de culoare	Abell și colab. (1) Trinder (214) Mann (152), Anderson și Keys (13), Searcy și Bergquist (192)	Instabilitatea culorii finale	Sînt considerate metode standard pentru dozarea colesterolului total
3.a) Extracție b) Reacția de culoare	Grigaut (110) Bloor (31), Webster (221), Carr și Drekter (245), Sackett (258)	Diferența în activitatea cromogenă a colesterolului și esterilor lui Influența cromogenilor nespecifici	Cu excepția metodei Carr și Drekter, care dă rezultate în acord cu metodele de referință, toate celelalte metode dau valori net crescute pentru colesterol
4.a) Reacția de culoare aplicată direct pe ser	Zlatkis și colab. (232), Rappaport și Eichorn (175) Watson (220), Pearson și colab. (167), Huang și colab. (124)	Aceleași surse de eroare	Metodele bazate pe reacția Lieberman-Burchard sînt foarte simple, dar nespecifice. Metodele bazate pe reacția cu clorură ferică dau valori prea mari

Scanned with OKEN Scanner

4. Reacţia de culoare, sau dozarea propriu-zisă. Suprimarea uneia sau a mai multora dintre aceste etape simplifică tehnica, dar scade precizia şi specificitatea dozării.

Pe baza celor 4 etape se pot distinge 4 grupe principale de metode, a căror clasificare schematică o prezentăm mai jos.

METODE CARACTERIZATE PRIN IZOLAREA DIGITONINEI (METODE ÎN 4 TIMPI)

Aceste metode sînt considerate specifice pentru colesterol şi servesc ca metode de referinţă fiind cele mai fidele, însă prezintă marele inconvenient că sînt relativ laborioase (necesită în general mai multe centrifugări), din care cauză nu sînt indicate ca metode de rutină, ci numai în studierea comparativă a metodelor sau în punerea la punct a unei noi metode.

Reacţia de culoare a majorităţii tehnicilor din acest grup este derivată din reacţia Liebermann-Burchard. Cercetările lui Lange (136) Dulon (73) şi ale altor autori au dus la concluzia că mecanismul general posibil de reacţie, al reacţiei Liebermann-Burchard, caracterizată prin formarea unui produs final verde, şi al reacţiei Salkowski, caracterizată prin formarea unui compus final roşu, constă în deshidratarea colesterolului cu formarea unui colestadien cu duble legături conjugate, dimerizarea acestuia la biscolestadien şi sulfonarea, în urma căreia pot apărea 2 derivaţi sulfonici : acidul biscolestadien monosulfonic şi acidul biscolestadien disulfonic. Culoarea verde s-ar datora acidului biscolestadien monosulfonic, iar cea roşie acidului biscolestadien disulfonic. Deci, în funcţie de natura derivatului sulfonic, există două categorii de reacţie.

Reacţiile chimice care stau la baza metodelor în 4 timpi nu pot fi considerate „cantitative" pentru că nu se opresc la formarea celor 2 compuşi halocromici menţionaţi, ci se desfăşoară în continuare cu formarea de noi compuşi. Culorile obţinute în reacţia finală sînt adesea puţin stabile. De exemplu, în prezenţa anhidridei acetice şi a acidului sulfuric, colesterolul ia succesiv nuanţe roz, violet, albastru, verde, galben-brun. Deoarece culoarea verde este cea mai stabilă în timp, s-a propus fotometrarea în acest moment.

Trebuie menţionat, de asemenea, că reacţiile utilizate pentru dozarea colesterolului nu sînt specifice dozării acestui compus. Este vorba de reacţii „de grup" care pot fi date şi de alţi steroli cu structură analogă, sau de alte substanţe. Inconvenientul major îl constituie interferenţa bilirubinei. Pentru serurile cu concentraţie normală sau subnormală de bilirubină, această interferenţă nu este dăunătoare, pentru serurile cu conţinut anormal de bilirubină, însă, interferenţa nu este indicată, deoarece valoarea cromogenă a bilirubinei este mai mare decît a colesterolului : 50 mg/l bilirubină dau aceeaşi intensitate de culoare cu 250 mg/l colesterol. În cazul unui exces de bilirubină este obligatorie adoptarea unei metode în 4 timpi. O anumită corectare se poate obţine prin fotometrare la 550 nm, care elimină parţial interferenţa culorii dată

de bilirubină, cu alt maxim de absorbţie. Watson consideră că eliminarea interferenţei bilirubinei se poate obţine convenabil prin transformarea acesteia în biliverdină, în urma acţiunii apei oxigenate sau a doraminei T. Extracţia dată de blancul de biliverdină se scade din extincţia probei în dozarea propriu-zisă.

În reacţia de culoare, interferă de asemenea, toate substanţele în molecula cărora se găseşte nucleul ciclopentanoperhidrofenantrenic cu o funcţie alcoolică secundară în poziţia 3 şi o dublă legătură în poziţia 5—6. Unii hormoni steroizi (pregnenolon), dau reacţia Liebermann-Burchard, dar avînd în vedere că concentraţia lor în comparaţie cu a colesterolului este mică, chiar în cazul unor valori patologice, interferenţa lor poate fi neglijată.

Reacţia Liebermann-Burchard este în acelaşi timp şi foarte sensibilă la diferiţi factori :

— concentraţia H_2SO_4, gradul său de hidratare, puritate ;
— natura solventului folosit pentru extracţie ;
— timpul necesar pentru dezvoltarea culorii ;
— temperatura de reacţie ;
— lungimea de undă la care se fotometrează ;
— claritatea serului ;
— culoarea finală verde este rezultanta suprapunerii a două nuanţe deosebite : una galbenă, stabilă în timp, dar sensibilă la lumină, al cărei maxim de absorbţie e aproximativ la 415 nm şi una albastră, puţin stabilă în timp, dar mai puţin sensibilă la lumină, al cărei maxim de absorbţie e situat la 620 nm.

Practica a demonstrat că reacţia Liebermann-Burchard dă rezultate foarte bune, cu condiţia să se practice anterior saponificarea, dacă se respectă următoarele condiţii :

— raportul între ser şi amestecul alcool-eter să fie 0,5 : 28 ;
— anhidrida acetică să conţină 5% acid acetic purificat ;
— reacţia să se desfăşoare extemporaneu, la temperatură scăzută — în baie de gheaţă — folosind următoarele cantităţi : 19 ml anhidridă acetică cu acid acetic pur 5% şi 1 ml H_2SO_4 concentrat.

Metoda clasică în 4 timpi este metoda Schönheimer (191) modificată ulterior de Sperry şi Webb (201), ambele fiind metode de referinţă. Tehnicile Galloway (97), Colman şi Mc Phee (244), Ferro şi Ham (84) sînt tot în 4 timpi. Metoda Brown (41) se deosebeşte de cele menţionate anterior prin faptul că izolarea digitonidei se face prin filtrare şi nu prin centrifugare. Compusul glicidic al digitonidei poate fi, de asemenea, dozat cu antronă.

Mai recent s-a propus precipitarea cu tomatină sau cu sulfat de pirimidină, care formează, cu colesterolul, un complex mai puţin solubil ca digitonida. Metoda Kabara se bazează pe dozarea colesterolului total şi a colesterolului neesterificat după izolarea tomatidinelor. Acest grup de metode ar putea înlocui metodele clasice, ca metode de referinţă, dacă studiile comparative vor confirma validitatea şi avantajele lor.

Scanned with OKEN Scanner

METODE ÎN 3 TIMPI

Suprimarea etapei de izolare a digitoninei a dus la apariţia unor metode mai simple, care se bazează pe saponificarea fracţiunii esterificate realizată de către Na sau K la cald sau la rece, urmată de extracţia colesterolului cu un solvent convenabil (în general eter de petrol) şi realizarea reacţiei de culoare pe extractul evaporat la sec.

Literatura de specialitate indică metoda Abell-Kendall (1), variantele Trinder (214) şi Anderson (13) ca metode specifice pentru colesterol, dînd valori în concordanţă cu cele furnizate de metodele de referinţă. Aceste metode au avantajul că sînt destul de simple şi pot fi puse uşor la punct, deci se pretează dozărilor curente. Inconvenientul tehnicii Abell constă în insuficienta stabilitate a culorii obţinute în urma reacţiei finale cu reactiv Liebermann-Burchard. Abell indică citirea colorimetrică între 30 şi 35 minute după reacţia de culoare, considerînd că acesta este intervalul în care coloraţia atinge maximul de intensitate şi stabilitate. În realitate, acest interval variază după ser. Pentru a evita dependenţa valorii citite de instabilitatea culorii, Anderson propune ca citirea extincţiei să se facă după 20 de minute, să se repete la intervale de 5 minute, păstrîndu-se pentru calcul extincţia maximă înregistrată. Alţi autori au propus evitarea acestei surse de eroare prin substituirea reacţiei Liebermann-Burchard cu alte reacţii, în urma cărora se dezvoltă o coloraţie mai stabilă în timp. Astfel, în varianta Trinder (214) s-a folosit reacţia cu clorură de acetil, dicloretan şi H_2SO_4, iar în varianta Rose, preluată mai tîrziu de Hanel şi Dam, s-a folosit reactiv tip Tschugaeff (clorură de acetil şi săruri de zinc în soluţie acetică). Reacţiile Trinder şi Tschugaeff au ca inconveniente următoarele :

— volatilitatea şi instabilitatea clorurii de acetil ;
— toxicitatea dicloretanului ;
— sensibilitatea extremă la apă, chiar în cantităţi foarte mici ;
— vîscozitatea mare a soluţiei de clorură de zinc.

Jurand şi A. Recht au practicat reacţia cu acid acetic şi H_2SO_4 pe un extract redizolvat în etanol. Dacă reacţia se practică după saponificare se obţin rezultate satisfăcătoare.

În sfîrşit, anumite tehnici preconizează utilizarea în reacţia de culoare a unui reactiv pe bază de sare ferică. Mann propune reacţia cu clorură ferică, iar Zlatkis şi colab. (232) şi Zak (230) propun dozarea colesterolului în prezenţa unei soluţii acetice de perclorură de fier în mediu sulfuric. Culoarea roşie dezvoltată se citeşte la lungime de undă = 550 nm. Reacţia Zlatkis-Zak e destul de delicată din punctul de vedere al execuţiei deoarece este însoţită de o puternică creştere a temperaturii. Diferitele variante ale acestei tehnici constau în modificarea vitezei de reacţie şi temperaturii atinse. Dacă aceşti 2 parametri nu se respectă riguros, valorile extincţiei optice nu sînt perfect reproductibile.

Acidul acetic, percloric, fosforic pot înlocui parţial sau total acidul sulfuric. Clorura ferică poate fi substituită cu sulfat sau citrat. Astfel, metoda Searcy (192) este o variantă a metodei Zlatkis în care sulfatul

feros ia locul clorurii ferice în reacţia finală. Se pare că puterea cromogenă a sulfatului feros este legată de prezenţa ionilor ferici. Ionii Fe^{+++} din reacţia Zlatkis pot fi substituiţi prin alţi ioni metalici, de exemplu prin Ca^{++} (Torres) sau Cu^{++} şi Hg^{++} (Zak şi Epstein) (230).

În comparaţie cu tehnicile care folosesc reacţia Liebermann-Burchard, acest ultim grup de tehnici prezintă două avantaje importante : mare sensibilitate, extincţia fiind de 5—8 ori mai mare pentru concentraţii echivalente şi stabilitatea coloraţiei finale. Tehnicile Zlatkis şi Zak se pretează la adaptare ca micrometode.

Reacţia Carpenter cu tricloretan, anhidridă acetică şi H_2SO_4, caracterizată printr-o coloraţie finală verde asemănătoare celei date de reacţia Liebermann-Burchard, a fost propusă ca reacţie fluorescentă. Citirea fluorimetrică e mai sensibilă ca cea fotometrică (242).

Metodele cu $FeCl_3$ prezintă ca inconvenient numeroase cauze de eroare : la interferenţa bilirubinei se adaugă cea a hemoglobinei, vitaminelor A şi D, piramidonului şi, îndeosebi, a derivaţilor salicilici folosiţi frecvent în terapie. Aceste metode sînt şi foarte sensibile la urmele de impurităţi ale acidului acetic. Acidul acetic p.a. care conţine cantităţi variabile de impurităţi, după firma producătoare, trebuie redistilat pe anhidridă cromică sau după tratare cu $K_2Cr_2O_7$. Eroarea cea mai mare este dată de impurităţile de acid glioxilic, care reacţionează cu triptofanul proteinelor serice, interferînd în acest fel în reacţia finală.

Se pare că rezultatele cele mai bune le furnizează o variantă a metodei Abell, şi anume metoda Vanzetti şi Gatti (218) care foloseşte ca reactiv final un reactiv tip Liebermann-Burchard stabilizat, cu sulfat de sodiu, care dă o culoare stabilă şi rezultate foarte reproductibile.

METODE ÎN 2 TIMPI

Acest grup de tehnici evită faza de saponificare şi constă în extracţia colesterolului urmată de dozarea propriu-zisă. Extracţia se realizează totdeauna cu un amestec de solvenţi organici : eter-etanol, acetonă-etanol, metilal-metanol etc. Reacţiile de culoare cel mai des folosite sînt reacţia Liebermann-Burchard şi reacţia cu $FeCl_3$.

Metodele din acest grup au următoarele dezavantaje :

— diferenţe între puterea cromogenă a colesterolului neesterificat şi a colesterolului esterificat prezent în extractul lipidic ;

— prezenţa posibilă a unor cromogeni nespecifici în extractele lipidice nesaponificate ale serului, capabili să reacţioneze cu reactivii folosiţi în mod obişnuit şi, de asemenea, prezenţa unor substanţe capabile să intensifice sau să diminueze dezvoltarea culorii. Cercetările lui Brown (41) şi Cohen (218) asupra surselor de eroare ale metodelor de dozare a colesterolului pe bază de $FeCl_3$, reactivi tip Tschugaeff şi clorură de acetil + acid percloric, au demonstrat că valorile obţinute prin dezvoltarea culorii cu reactivii menţionaţi pe extracte nesaponificate sînt net mai crescute faţă de cele obţinute cu metodele de referinţă, sau faţă de cele rezultate prin aplicarea aceloraşi reactivi pe extractele saponificate.

Scanned with OKEN Scanner

Tehnicile Grigaut (110), Bloor (31), Delsal (68), Webster (221), Sackett (258), aparţin acestui grup de metode. Kurzweg şi Massmann, studiind comparativ valorile furnizate de metodele originale şi diferite variante ale acestora pentru colesterol, au găsit diferenţe pronunţate între puterea cromogenă a colesterolului liber şi esterilor de colesterol, subliniind că, mai ales, oleatul de colesteril dă o extincţie redusă.

Cohen (218) a separat colesterolul esterificat şi neesterificat din extractele lipidice, prin cromatografie pe coloană de oxid de aluminiu. Dozările pe extracte nesaponificate au dat valori net crescute pentru colesterolul total şi net mai reduse (pînă la 50%) pentru esterii de colesterol.

Dintre tehnicile amintite, cele ale lui Bloor (31) şi Sackett (258), care constau în practicarea reacţiei Liebermann-Burchard pe extracte cloroformice nesaponificate ale serului, dau, de asemenea, rezultate diferite de metodele de referinţă, esterii de colesterol colorîndu-se cu un procent de pînă la 30% mai intens decît colesterolul liber în concentraţie echivalentă. Din acest motiv, se obţin, pentru colesterolul total, valori mai mari cu 10—20% faţă de metodele de referinţă.

Alte reacţii practicate pe extracte nesaponificate cum sînt: reacţia Liebermann-Burchard în mediu acetic, reacţia Zlatkis cu clorură ferică în mediu de acid acetic, reacţia Pearson cu acid paratoluensulfonic în soluţie acetică şi reacţia Searcy cu sulfat în mediu acetic, dau aceeaşi coloraţie pentru concentraţii echivalente de colesterol şi esteri de colesterol. Astfel, metoda Carr şi Drekter (245) care se bazează pe reacţia Liebermann-Burchard dă rezultate corespunzătoare metodelor standard, deoarece puterea cromogenă a colesterolului esterificat este echivalentă în acest caz cu cea a colesterolului neesterificat. Totodată, valorile obţinute pentru colesterolul total sînt în acord cu cele obţinute prin metoda Schönheimer. Nu se recomandă totuşi ca metodele Carr şi Drekter să înlocuiască metoda Abell, întrucît necesită efectuarea unui blanc pe ser şi, deci, nu scurtează timpul de execuţie.

În metoda Sols (199), în care se face extracţia serului la cald cu acid acetic, metoda Leffler (143) bazată pe extracţia cu alcool izopropilic, metoda Babson (240), care foloseşte ca solvent un amestec de etanol-acetat de etil 1 : 1, metoda Browman (43) în care extracţia se face cu alcool etilic, reacţia de culoare se practică direct pe extractul lipidic total al serului şi nu pe extractul de colesterol.

Metodele Browman, Leffler şi Babson prezintă în plus marele avantaj că elimină interferenţa bilirubinei, care precipită o dată cu proteinele în primele două metode menţionate, sau se absoarbe pe hidroxid de aluminiu în cea de a 3-a. Metoda Babson dă valori ale extincţiei numai cu 1,3% mai mari decît cele furnizate de metoda Abell, pe care poate deci să o substituie cu succes. Aceste metode se pretează bine la determinarea colesterolului seric total, ca şi la dozarea fracţionată a colesterolului esterificat şi neesterificat.

În general, se poate spune că metodele din acest grup sînt relativ rapide, dar, datorită specificităţii mai slabe, li se poate reproşa lipsa de precizie. Dintre toate metodele de dozare a colesterolului în extrac-

tele lipidice nesaponificate, numai metoda Carr şi Drekter şi metoda Babson dau cu certitudine rezultate bune, în acord cu metodele de referinţă.

METODE DIRECTE

În anumite condiţii reacţia finală poate fi aplicată direct serului, rezultînd un grup de tehnici limitate la o singură etapă : colorarea. După reacţia de culoare putem deosebi 3 subgrupe :

a. Metode directe care folosesc ca reactiv de culoare un reactiv pe bază de clorură ferică. Metoda Zlatkis şi colab. (232) este o metodă foarte simplă, dar influenţată de numeroşi factori. Studiile comparative au dat valori ale extincţiei cu peste 60% mai mari decît metodele de referinţă.

Cele mai importante surse de eroare ale acestor metode sînt :

— impurităţile reactivilor, îndeosebi ale acidului acetic ;

— interferenţa anumitor substanţe : hemoglobină, bromuri, latosterol, desmosterol. Influenţa bilirubinei e mai slabă decît în reacţia Liebermann-Burchard ; 1 mg% bilirubină are aceeaşi valoare cromogenă cu 1,4 mg% colesterol.

Metodele directe cu $FeCl_3$ sînt greu de verificat, unele imperfecţiuni ale tehnicii pot duce la rezultate eronate şi nereproductibile, de aceea nu se recomandă ca metode standard de dozare a colesterolului seric, chiar dacă unii autori au raportat rezultate comparabile cu cele furnizate de metoda Abell. Rezultate mai bune, deşi nu pe deplin satisfăcătoare se obţin dacă se face precipitarea prealabilă a proteinelor cu o soluţie acetică de $FeCl_3$.

b. Metode directe care folosesc acizii arilsulfonici dizolvaţi în acid acetic. În acest caz la reactivul de culoare (H_2SO_4 şi anhidridă acetică) se adaugă o substanţă al cărei rol e puţin elucidat. Se ştie că aceasta stabilizează reactivul şi determină transformarea colesterolului liber şi colesterolului esterificat într-un singur acetat de colesterol. Această transformare determină intensificarea culorii la care concură şi o anumită interferenţă cu proteinele. Pearson şi colab. (167) preconizează acidul paratoluensulfonic. Rappaport şi Eichorn (175) indică acidul sulfosalicilic, Watson (220) acidul dimetilbenzensulfonic. Variantele amintite folosesc reactivi mai stabili decît reactivii curenţi, tip Liebermann-Burchard. Pentru înlăturarea surselor de eroare se recomandă pregătirea unui blanc pentru fiecare ser examinat, prin diluarea serului cu soluţie acetică de acid sulfosalicilic, dimetilbenzensulfonic sau paratoluensulfonic. Se omite adăugarea acidului sulfuric.

Metoda Pearson dă rezultate eronate în cazul serurilor icterice. Pentru a elimina interferenţa bilirubinei, Watson propune transformarea acesteia în biliverdină, prin tratarea blancului cu apă oxigenată, fără a adăuga H_2SO_4.

Blancul este necesar şi în cazul serurilor hemolitice ;

c. Metode directe în care coloraţia Liebermann-Burchard este aplicată direct serului.

Scanned with OKEN Scanner

Metoda directă Ferro şi Ham (84) dă o extincţie cu 15—20% mai mare ca cea dată de metodele în 4 timpi.

Ca metodă directă de rutină este de preferat varianta Huang şi colab. (124) care se bazează pe adăugarea a 0,1 ml ser la 5 ml reactiv tip Liebermann-Burchard stabilizat cu sulfat de sodiu, modificată de Etienne şi Cottet (83).

Avantajele principale ale acestei metode sînt : marea simplitate şi stabilitatea destul de mare a culorii. În cazul serurilor normale dă rezultate comparabile cu metoda Abell şi colab. (1). Este, însă, sensibilă la bilirubină şi alte substanţe, dar creşterea extincţiei datorită acestor interferenţe este contrabalansată de reducerea extincţiei determinată de interferenţa apei din ser. Cînd însă hiperbilirubinemia este exagerată, se obţin valori mari, deoarece 1 mg% bilirubină echivalează ca putere cromogenă cu 5,5 mg% colesterol.

Datorită sensibilităţii şi simplităţii lor, aceste tehnici permit aplicarea sub formă de ultramicrometode şi metode automate. De exemplu, metoda Pearson şi colab., a fost adaptată de Boy la autoanalyzer.

Metodele directe din subgrupele b) şi c) pot fi folosite ca metode rapide, cu valoare orientativă, în timp ce metodele directe cu $FeCl_3$ ar trebui abandonate.

Dozarea colesterolului esterificat şi neesterificat. Cînd este necesară dozarea separată a formelor libere şi esterificate ale colesterolului, în vederea determinării procentului de esterificare, punctul de plecare îl constituie extractul lipidic total pe care se pot practica următoarele metode :

a. Precipitarea colesterolului liber cu digitonină, urmată de dozarea colesterolului precipitat sau esterificat care rămîne în soluţie. Ca metodă de referinţă, se poate folosi Sperry şi Webb (201) cu care se dozează colesterolul liber şi total, iar colesterolul esterificat se obţine prin diferenţă. Practic, se procedează la precipitarea colesterolului liber cu o soluţie de digitonină, se izolează digitonida, se practică reacţia de culoare şi se citeşte extincţia. Acelaşi principiu stă la baza unor metode mai recente : Ferro şi Ham, Colman şi Mc Phee.

Metoda propusă de Webster constă în extracţia lipidelor cu etanol şi eter de petrol, precipitarea colesterolului liber cu digitonină într-o cotă parte din extract, evaporată în prealabil la sec şi preluată în etanol. Se izolează digitonida prin centrifugare şi se dozează colesterolul esterificat în supernatant.

În metoda Babson şi colab. (240) se realizează precipitarea colesterolului cu digitonină pe extract lipidic într-un amestec de etanol-acetat de etil 1 : 1. După izolarea digitonidei prin centrifugare, se dozează colesterolul esterificat în lichidul supernatant.

b. Metoda cromatografică de separare a colesterolului esterificat şi neesterificat din ser a fost iniţiată de Trappe (212). Se poate executa cromatografia pe coloană de aluminiu sau pe acid silicic. În cazul cromatografiei pe coloană de aluminiu, colesterolul esterificat poate fi eluat cu un amestec de cloroform-eter de petrol, iar colesterolul liber

este preluat într-un amestec de cloroform-acetat de etil, după metoda Agneray (5).

Prin metodele cromatografice se poate face dozarea separată, cît şi simultană a colesterolului liber şi esterificat, cu rezultate foarte bune.

c. Dozarea colesterolului esterificat şi neesterificat, folosind diferenţa în viteza de dezvoltare a culorii, în prezenţa reactivului Zlatkis, în funcţie de temperatură : 55°C pentru colesterolul total şi 20°C pentru colesterolul liber.

Determinarea procentului de esterificare este un test bun pentru investigarea insuficienţei celulare hepatice, deoarece esterificarea se află sub controlul unei esteraze hepatice. Deoarece metodele de dozare fracţionată a colesterolului liber şi esterificat sînt studiate cu rezerva pe care o implică imprecizia lor relativă, se consideră patologice numai rezultatele care diferă net de normalul de 60—70% colesterol esterificat.

Dozarea colesterolului fracţiunilor alfa- şi betalipoproteine. Cele mai importante metode pentru fracţionarea şi studiul lipoproteinelor serice sînt ultracentrifugarea, electroforeza, precipitarea etanolică la rece, după metoda Cohn şi fracţionarea cu heparină sau heparinoide, după metoda Burstein (49, 60). Dintre acestea, fracţionarea lipoproteinelor prin ultracentrifugare este metoda cea mai fidelă.

Izolarea prin electroforeză este supusă unor erori rezultate din faptul că : legătura între lipide şi coloranţi nu e stoechiometrică, diferite lipide au afinităţi deosebite pentru acelaşi colorant, în cursul spălării benzilor se pot pierde cantităţi de colorant care trec în soluţie.

După izolarea diferitelor fracţiuni, se face dozarea colesterolului prezent în fracţiunile lipoproteice separate prin ultracentrifugare, electroforeză sau prin agenţi chimici. Dintre metodele de dozare a colesterolului fracţiunilor de alfa- şi beta-lipoproteine separate prin electroforeză menţionăm : metoda Boyd (38), metoda Nurry şi Smith (164), metoda Crowford (63), metoda Searcy şi colab. (192).

Metoda Searcy constă în introducerea benzilor de electroforeză într-o soluţie diluată de hematoporfirină şi observarea lor în lumină ultravioletă pentru identificarea fracţiunilor lipoproteice, deoarece alfa- şi beta-lipoproteinele apar ca benzi fluorescente. Apoi, se extrag lipidele fiecărei benzi într-un solvent corespunzător, se usucă extractul fiecărei benzi şi se face dozarea colesterolului printr-o reacţie de culoare.

Metoda Cohn constă în fracţionarea cu etanol la temperatură joasă. Prezintă inconvenientul că necesită folosirea unei băi de refrigerare. Metoda a fost preluată şi folosită de Russ şi colab. (186).

Anderson şi Keys au propus o metodă mai simplă dar mai puţin specifică (13).

Metodele bazate pe fracţionarea cu heparină şi heparinoide de sinteză au fost iniţiate de Burstein şi Samaille (49, 50), Hartman şi colab. (112). Scanu şi colab. (190). Ele constau în dozarea beta-lipoproteinelor prin precipitare cu sulfat de dextran în prezenţa clorurii de calciu, sau precipitarea cu heparină în prezenţa clorurii de calciu sau a clorurii de magneziu, sau precipitarea cu heparină şi fenol. Acestea sînt metode directe foarte simple. Deoarece sulfatul de dextran cu pro-

Scanned with OKEN Scanner

prietăţi chimice (grad de sulfatare) şi fizico-chimice (greutate moleculară medie) constante este mai greu accesibil, în practica curentă se folosesc metodele cu heparină. Dintre acestea, metoda Burstein şi Samaille (50) se distinge prin mare exactitate şi simplitate, pretîndu-se îndeosebi dozărilor în serie, cu condiţia ca determinările să se facă numai pe ser şi nu pe plasmă obligatoriu în ziua recoltării.

Studiile comparative întreprinse de Burstein au evidenţiat că precipitarea cu heparină dă rezultate comparabile cu fracţionarea electroforetică şi în concordanţă cu cele furnizate după separarea lipo-proteinelor prin ultracentrifugare. Burstein a asociat metoda cu heparină cu metoda Pearson de dozare a colesterolului seric.

Alţi autori au combinat metoda de precipitare cu heparină cu metoda Abell, adaptînd procedeul de extracţie şi reacţia de culoare finală în aşa fel încît să se obţină o culoare stabilă şi suficient de intensă pentru colesterolul fracţiunii lipoproteice alfa. Această metodă, iniţiată de Vanzetti, dă rezultate fidele şi foarte reproductibile (218).

Procedeul care asociază precipitarea heparinică a beta-lipoproteinelor după Burstein şi o variantă a metodei Abell şi colab. (1) pentru dozarea colesterolului fracţiunilor alfa şi beta este recomandat ca metodă standard.

Dacă se studiază comparativ fracţiunile de lipoproteine principale ale serului, rezultate în diferite metode de separare a familiilor de lipoproteine, se obţine următoarea corespondenţă :

Tabelul IV.2

Corespondenţa între principalele fracţiuni lipoproteice obţinute prin diferite metode

Metoda de separare	Principalele fracţiuni lipoproteice	
Electroforeză pe hîrtie	lipoproteine alfa	lipoproteine beta
Ultracentrifugare	lipoproteine cu greutate specifică mare ($d > 1063$)	lipoproteine cu greutate specifică joasă ($1\,006 < d < 1\,063$)
Fracţionare după metoda Burstein şi Samaille	Fracţiune care nu precipită cu heparină şi $MnCl_2$	fracţiune care precipită cu heparină şi $MnCl_2$
Fracţionare etanolică prin metoda Cohn	fracţiunile IV + V + VI	fracţiunile I + III
Fracţionare după metoda Scanu şi colab.	fracţiune care nu precipită cu heparină şi fenol	fracţiune care precipită cu heparină şi fenol

STANDARDUL DE COLESTEROL

De o deosebită importanţă în dozarea colesterolului este puritatea colesterolului folosit ca standard. Majoritatea preparatelor comerciale conţin colesterol contaminat cu colestanol sau dihidrocolesterol, lanosterol şi urme de 7-dehidrocolesterol şi 7-ketocolesterol.

Criteriile pentru evaluarea purităţii standardurilor de colesterol stabilite de Radin şi Gramza (173) sînt următoarele :

— punctul de fuziune, care după recristalizare trebuie să fie aproximativ 149,5°—151,8° ;

— absorbtivitatea moleculară a colesterolului în reacţia Liebermann-Burchard din tehnica Carr şi Drekter şi în reacţia cu clorură ferică din tehnica Rosenthal ;

— absorbţia optică la 235 μm pentru evaluarea 7-ketocolesterolului.

Produşii originali nu sînt suficient de puri. Pe baza criteriilor menţionate au fost comparate diferite preparate comerciale ale colesterolului şi produşii obţinuţi după recristalizarea prin diferite metode. S-a constatat că metodele de recristalizare cu dibromură Radin şi Gramza şi metoda Bladon cu acid acetic dau rezultatele cele mai satisfăcătoare. Tehnicile moderne de cromatografie în gaz a sterolilor pot rezolva în prezent, mai bine problemele purităţii colesterolului folosit ca standard.

DOZAREA COLESTEROLULUI PRIN METODA MANN (152)

Este important să se cunoască variaţiile colesterolului în funcţie de tehnica de dozare folosită, din care cauză este necesar ca laboratorul să precizeze metoda adoptată, limitele superioare şi inferioare, iar evoluţia unei colesterolemii să fie urmărită prin aceeaşi tehnică de dozare, pentru ca diferenţele între valori să poată fi interpretate corect.

În laboratorul nostru s-a adoptat metoda Mann, o metodă standard în 3 timpi care foloseşte procedeul de saponificare şi extracţie Abell şi colab. (1) şi reacţia de culoare Zlatkis şi colab. (232). Determinarea colorimetrică a colesterolului se bazează pe formarea unei culori violet, care se dezvoltă cu amestec de acid sulfuric-acid acetic ce conţine Fe^{3+}. Culoarea este stabilă, mai puţin sensibilă la factorul timp şi la condiţiile de lucru decît reacţia Liebermann-Burchard. În plus, fiind mai sensibilă, permite reducerea cantităţii de ser la 0,1 ml.

Reactivi: a) Amestec etanol-KOH. Se prepară zilnic, după necesităţi, un amestec din 6 părţi soluţie stoc de KOH 33% şi 94 părţi alcool etilic absolut.

b) Eter de petrol. Reactivul p.a. este redistilat în distilator de sticlă şi se colectează fracţiunea care fierbe între 30 şi 60°C. Se păstrează în sticlă brună.

c) Clorură ferică, soluţie stoc. Se dizolvă 1 g $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ în 10 ml acid acetic glacial. Se păstrează la temperatura camerei. Poate fi folosită mai multe luni.

d) Reactiv de lucru : acid sulfuric-clorură ferică. Se transferă exact 1 ml soluţie stoc de $FeCl_3$ într-un balon cotat perfect uscat, de 100 ml şi se aduce la volum cu H_2SO_4 concentrat p.a. Se înlocuieşte cînd apare un precipitat în soluţie.

e) Standard de colesterol. Se dizolvă 100 mg colesterol recristalizat în acid acetic glacial, într-un balon cotat de 100 ml şi se completează volumul cu acid acetic glacial. Standardul stoc conţine, deci, 1 000 μg/ml. Standardul de lucru conţine 100 μg/ml şi se obţine prin transferarea a 10 ml standard stoc în balon cotat de 100 ml şi completarea la volum cu acid acetic glacial. Standardurile se păstrează la temperatura camerei (aproximativ 23°C), maximum 3 luni.

Scanned with OKEN Scanner

Material necesar şi aparatură :

— spekol ;

— baie de termostatare la 65°C ;

— eprubete 200 × 125 mm cu dop etanş. Sînt necesare eprubete de rezervă a căror folosire este obligatorie pentru înlocuirea eprubetelor ciobite, care pot produce pierderi de lichid ;

— baloane cotate.

Spălarea sticlăriei se face cu detergent, clătire energică cu apă, apoi cu apă distilată, după care se face uscarea în cuptor, la temperatură nu prea ridicată, îndeosebi pentru sticlăria volumetrică.

Procedeu. Se transferă 0,1 ml ser sau plasmă bine agitată pentru omogenizare, în partea inferioară a eprubetelor de extracţie. După fiecare pipetare se spală bine micropipeta şi se aruncă apa de spălare.

Se adaugă în fiecare eprubetă cîte 5 ml hidroxid de potasiu etanolic agitîndu-se eprubetele prin mişcări scurte şi repezi în plan orizontal.

Eprubetele se pun în baie de apă la temperatura de 65°C, timp de 60 de minute, fără dopuri, pentru saponificare, apoi se lasă să se răcească la temperatura camerei. Se face extracţia adăugînd exact 10 ml eter de petrol şi agitînd energic, prin răsturnări repetate timp de 1 minut. Se adaugă 5 ml apă distilată în fiecare eprubetă şi se agită din nou energic, prin răsturnare timp de 1 minut.

După separarea stratului de eter de petrol se preiau exact 2 ml din acest strat cu o pipetă şi se transferă în eprubete de 22 × 175 mm. Eprubetele se pun în baie la 65°C pentru evaporarea totală a solventului, timp de aproximativ 30 de minute. Se poate face evaporarea şi sub curent de azot pentru reducerea timpului necesar. După evaporare la sec, eprubetele se lasă să se răcească la temperatura camerei. Se adaugă cîte 4 ml acid acetic glacial. Din acest moment, blancul şi standardurile sînt supuse aceloraşi operaţiuni ca şi probele. Se folosesc 3 soluţii standard cu concentraţiile 20 µg, 50 μg şi, respectiv, 100 µg colesterol la care se adaugă 3,8 ; 3,5 şi, respectiv 3,0 ml acid acetic glacial.

Atît în probe, cît şi în standarduri şi blanc se adaugă exact 2 ml reactiv H_2SO_4—$FeCl_3$, şi se agită energic. Apare o culoare brună trecătoare, care virează apoi spre violet. Dacă eterul de petrol nu e pur se formează numeroase bule de gaz. care fac imposibilă fotometrarea.

Eprubetele se lasă 20—30 de minute la temperatura camerei, după care se face citirea extincţiei optice la 560 mμ faţă de blancul reactivilor. Conversia densităţii optice în mg/100 ml colesterol este simplificată prin calculul factorului de multiplicare, care reprezintă media raporturilor colesterolului în standard la densitatea optică multiplicată prin factorul de diluţie corespunzător.

Dacă densitatea optică a probei este mai mare de 0,600 se va folosi o cantitate mai mică de eter de petrol, iar dacă densitatea optică este sub 0,100 se va folosi o cantitate mai mare din acest solvent.

Sticlăria utilizată pentru dezvoltarea culorii trebuie să fie perfect uscată.

Dacă se modifică cantitatea de ser folosită în dozare, se corectează corespunzător şi cantitatea de eter de petrol.

Transferul soluţiei cromogene în cuvele fotometrului se face cu grijă, evitînd formarea bulelor de aer în masa acesteia. Citirea extincţiei optice se poate face între 15 şi 60 de minute, interval în cursul căruia nu se înregistrează modificări ale intensităţii culorii.

Chiar dacă metoda Abell şi colab. (1) este ceva mai precisă, se consideră că acest mic avantaj este compensat de alte avantaje ale metodei Mann (mai rapidă, mai simplă ca tehnicitate şi mai ieftină, motive pentru care a fost preferată ca metodă de rutină). Important este în special faptul că cromogenul este stabil, evitîndu-se astfel dificultăţile reacţiei Liebermann-Burchard. Deoarece nu s-a demonstrat că dozarea separată a colesterolului liber şi esterificat ar fi importantă în studiul aterogenezei, această limitare a metodei la dozarea colesterolului total nu prezintă importanţă.

Valorile normale variază între 160 şi 260 mg colesterol total/100 ml.

IV.4.2. DOZAREA TRIGLICERIDELOR

În ultimul timp importanţa dozării trigliceridelor în plasmă sau ser a crescut datorită rolului demonstrat al acestora ca factor de risc în bolile ischemice, evaluarea lor servind la diagnosticarea anomaliilor moştenite sau dobîndite ale metabolismului lipidic.

În practica curentă, metodele pentru determinarea trigliceridelor dozează glicerolul gliceridic, care se deosebeşte atît de glicerolul liber din sînge (0,3—1,2 mg%), cît şi de glicerolul fosfolipidelor (20—33 mg%) şi care trebuie îndepărtate în faza de hidroliză şi adsorbţie pe zeolit.

Metodele de dozare a trigliceridelor se pot clasifica astfel :

Metode indirecte. Primele metode de dozare a trigliceridelor se bazau pe calcularea indirectă a acestora, ca diferenţă între conţinutul de lipide totale şi suma concentraţiilor de colesterol liber, esteri de colesterol şi fosfolipide. Calculul prin diferenţă se poate face după ecuaţia Eggstein (79) ; trigliceride = lipide totale — (colesterol liber + + steride + fosfolipide), sau prin ecuaţia Buckley (44) : trigliceride = = lipide totale — (colesterol liber + colesterol esterificat + fosfolipidie). Inconvenientul major al acestor metode este că nu ţin seama de aportul alimentar în trigliceride.

Metode directe. Acestea se pot subdiviza în :

a) metode cromatografice. În general se practică cromatografia pe coloană de silice (5, 120), care permite studiul cantitativ şi calitativ al variaţiilor trigliceridelor serice. Fiind foarte laborioase şi necesitînd cantităţi mari de sînge, se recurge la aceste metode numai în studiile comparative de evaluare a metodelor, în punerea la punct a unei noi metode sau în experimente speciale în care se impune precizia dozărilor ;

b) metode enzimatice, cum ar fi : metoda Eggstein şi Kreutz (80), metoda Wieland (223), metoda S. Carmine şi Mager (202), care sînt mai puţin laborioase şi foarte precise. Studiile comparative au arătat că dau rezultate comparabile cu cele furnizate de metodele cromatografice şi colorimetrice. Dificultăţile de obţinere a soluţiilor de enzime şi de

cosubstraturi (cu ATP, NAD şi fosfoenolpiruvat) le face însă mai greu accesibile ;

c) metode colorimetrice, cel mai frecvent folosite în practica curentă şi care se bazează pe oxidarea cu periodat a glicerolului gliceridic la formaldehidă, pe determinarea glicerolului gliceridelor neutre, sau pe determinarea grupurilor ester ale gliceridelor, deci pe determinarea trigliceridelor din porţiunea glicerol a moleculei sau grupurilor ester.

Principiul metodelor. Metodele pentru determinarea directă a trigliceridelor se pot subdiviza în două grupe :

a) metode în care fosfolipidele care interferă sînt îndepărtate înaintea dozării trigliceridelor. Aici sînt incluse cele mai multe metode manuale şi toate procedeele semiautomate ;

b) metode în care trigliceridele nu sînt separate de fosfolipide, dar sînt determinate după saponificare printr-un procedeu enzimatic specific pentru glicerol (80).

În cazul tehnicilor în care înaintea determinării trigliceridelor se îndepărtează fosfolipidele care interferă, etapele sînt următoarele :

— extracţia lipidelor ;
— adsorbţia fosfolipidelor ;
— saponificarea sau transesterificarea extractului care nu mai conţine fosfolipide ;
— determinarea glicerolului.

Dacă fosfolipidele nu sînt separate de trigliceride, iar acestea din urmă sînt determinate după saponificare printr-un procedeu enzimatic specific pentru glicerol, se omite etapa de saponificare şi se determină grupurile ester ale trigliceridelor. În acest caz, etapele de dozare vor fi numai două :

— extracţia lipidelor ;
— determinarea grupurilor ester ale trigliceridelor.

Deoarece volumul mare de muncă impune găsirea unor metode precise, dar în acelaşi timp mai simple pentru a deveni rutiniere, se preferă separarea fosfolipidelor printr-un procedeu comun şi nu prin cromatografie pe coloană, care reclamă timp mult şi instalaţii speciale. Tot pentru simplificare se încearcă combinarea etapelor de adsorbţie şi extracţie, prin desfăşurarea extracţiei în prezenţa adsorbantului aşa încît extracţia cantitativă a trigliceridelor şi adsorbţia fosfolipidelor depind exclusiv de raportul probă/solvent, probă/adsorbant, gradul de activare al adsorbantului şi mărimea particulelor lui, precum şi de întinderea şi durata contactului dintre probă şi solvent, ca şi dintre probă şi adsorbant. După extracţia cantitativă a trigliceridelor, combinată sau nu cu adsorbţia fosfolipidelor, urmează saponificarea. Diferitele metode propun efectuarea saponificării în diferite condiţii, dar procedeul cel mai comun este saponificarea în soluţie alcoolică de KOH 0,02—0,1 M, cînd se desfăşoară la o temperatură de 60—70°C (127, 216) sau 0,22—1,7 M, dacă are loc la o temperatură mai joasă, şi anume la 37—60°C (51, 80). În metodele automate se foloseşte o soluţie izopropanolică de saponificare. În urma saponificării se desfăşoară mai multe etape, printre care : evaporarea solventului folosit în saponificare,

extracţia glicerolului rezultat în urma hidrolizei trigliceridelor într-o fază apoasă, extracţia colesterolului şi a acizilor graşi eliberaţi într-o fază organică, care este apoi îndepărtată.

Clasificarea metodelor de determinare a trigliceridelor serice se bazează pe solventul de extracţie, adsorbant, solventul folosit pentru saponificare şi reacţia finală pentru determinarea glicerolului gliceridic sau a grupurilor ester. În principiu, o metodă dată depinde de reacţia finală pentru determinarea glicerolului, deoarece în amănunt diferitele metode pot să difere, dar există numeroase aspecte comune care permit clasificarea lor ca un „tip de metodă".

METODE BAZATE PE DETERMINAREA FORMALDEHIDEI PRODUSE DE OXIDAREA CU PERIODAT A GLICEROLULUI GLICERIDIC

Cele mai multe dintre metodele utilizate frecvent în dozarea trigliceridelor, şi anume metoda Carlson şi Wadström (58), Jagannathan (127), Michaels (157) şi Van Handel şi Zilversmit (216) se bazează pe determinarea formaldehidei rezultate în urma oxidării cu periodat a glicerolului eliberat prin saponificare după ecuaţia :

$$CH_2OH-CHOH-CH_2OH+2\ HIO_4 \longrightarrow 2\ HCHO+HCOOH+2\ HIO_3+H_2O$$

oxidare care are loc în mediu acid, pentru a nu se produce şi oxidarea formaldehidei.

Printre compuşii care interferă în această reacţie se numără : glucoza, serina, sfingozina, alfa-glicerofosfatul produs prin hidroliza alcalină a fosfogliceridelor.

Formaldehida rezultată se evaluează cu diferiţi reactivi, în funcţie de reacţia pentru identificarea acesteia deosebind mai multe procedee :

a. Metode bazate pe reacţia Eegriwe cu acid cromotropic, care reactivează formaldehida în mediu de acid sulfuric 9—10 M, timp de 30 de minute la temperatura de 100°C, dînd o culoare roz-violacee, stabilă la întuneric cel puţin 3 zile. Această reacţie poate servi la evaluarea formaldehidei (238) cu condiţia ca excesul de periodat care determină oxidarea să fie redus cu arsenit, înainte de reactivarea formaldehidei.

Regăsirea aproape cantitativă a trigliceridelor şi îndepărtarea fosfolipidelor, cu cele mai multe sisteme solvent-adsorbant folosite în reacţiile cu acid cromotropic, demonstrează acurateţea procedeului Lambert şi Neish (238).

Blankenhorn şi colab. (233) au comunicat o pierdere de pînă la 6% a fosfolipidelor în eluatele obţinute cu cloroform-zeolit după metoda Van Handel şi Zilversmit (216). Extractele de cloroform-zeolit şi cloroform-acid silicic sînt relativ libere de glucoză sau alte substanţe generatoare de formaldehidă, concluzie valabilă şi pentru extractele etanol eter după tratarea lipidelor în soluţie cloroformică cu acid silicic (250). Experimentele au demonstrat că glucoza adăugată nu interferă în sistemul cloroform-zeolit (216), sistemul cloroform-acid silicic (250), sau extractele cloroform-metanol obţinute prin metoda Folch (87, 88). De

asemenea, extractele izopropileter-etanol ale serurilor pacienţilor diabetici dau acelaşi blanc cu cel al reactivilor, ceea ce demonstrează că nu conţin glucoză (140).

Amestecul saponificat cu soluţie etanolică de hidroxid de potasiu se separă la adăugarea de H_2SO_4 în două faze : o fază superioară, care conţine acizi graşi şi colesterol, care va fi îndepărtată şi o fază inferioară, apoasă, care conţine glicerol. Dacă saponificarea se face cu soluţie metanolică, metanolul trebuie îndepărtat deoarece reacţionează cu acidul cromotropic în anumite condiţii.

În ce priveşte comportarea etanolului, există date contradictorii, unii autori (216) considerînd că etanolul determină turbiditatea în reacţia de culoare, în timp ce alţii (58) consideră că etanolul produce o slabă creştere în cantitatea de cromogen formată în reacţia finală, şi, aparent, o intensificare a vitezei de reducere a periodatului de către arsenit. Din aceste motive, Handel şi Zilversmit recomandă înlăturarea etanolului prin evaporare la sec, iar Moore consideră inutilă această etapă. Există, de asemenea, păreri contradictorii în ceea ce priveşte colesterolul şi acizii graşi, punîndu-se întrebarea dacă interferă sau nu în reacţia de culoare. În caz afirmativ (58) se propune îndepărtarea lor prin extracţie cu hexan înainte de oxidarea cu periodat şi îndepărtarea cantitativă ulterioară a hexanului care, altfel, produce extracţia selectivă a cromogenului. Glicerolul eliberat în urma saponificării este supus oxidării cu periodat, a cărui concentraţie variază la diferiţi autori de la 0,02 M la 0,005 M, scăderea concentraţiei fiind însoţită de obicei, de mărirea timpului de reacţie de la 5 la 10—15 minute pentru a obţine oxidarea cantitativă. Deoarece Frisell şi Mackenzie au afirmat că arsenitul interferă în reacţia finală, s-a propus înlocuirea lui cu alţi agenţi reducători : bisulfit (127), hidroxilamină, acetat de plumb etc. S-a demonstrat astfel că reducerea cu bisulfit produce cu 8% mai puţin cromogen decît reducerea cu arsenit.

Altmann şi colab. (9) consideră necesar să se renunţe la metodele care folosesc acid cromotropic, deoarece prezintă mai multe inconveniente :

— sînt delicate din cauza sensibilităţii reactivului cromogen ;

— folosirea acidului sulfuric concentrat este dăunătoare atît cuvelor colorimetrului, cît şi operatorului ;

— fierberea timp de 30 de minute la temperatura de 100°C face ca pierderile de lichid în eprubete să fie inegale.

Studiile comparative asupra capacităţii de dozare a diferitelor metode au evidenţiat că metoda Van Handel-Zilversmit (216) şi metoda Carlson (58) dau rezultate comparabile.

Pe lîngă metodele manuale menţionate, există numeroase procedee semiautomate, care se bazează pe determinarea formaldehidei rezultate în urma oxidării cu periodat a glicerolului prin reacţia Eegriwe cu acid cromotropic. Toate procedeele semiautomate, indiferent de principiul care stă la baza lor, necesită extracte care nu conţin fosfolipide, obţinute prin extracţie manuală cu solvenţi care permit adsorbţia simultană a fosfolipidelor. În metodele în care extracţia şi adsorbţia sînt combi-

Scanned with OKEN Scanner

nate, vor fi determinate cantităţile limită de extract de probă necesare, care asigură suficientă apă pentru a permite extracţia cantitativă a trigliceridelor şi îndepărtarea fosfolipidelor. Astfel, Kessler şi Lederer (233, 251) au recuperat complet trigliceridele şi au îndepărtat fosfolipidele din amestecul cloroform-zeolit între diluţiile 1 : 10—1 : 25 ale probei cu izopropanol. Trebuie, de asemenea, specificată mărimea particulelor şi viteza de activare a adsorbantului. Regăsirea trigliceridelor şi îndepărtarea cantitativă a fosfolipidelor trebuie studiate şi pentru a determina raportul limită, probă/solvent, ca şi raportul optim, probă/adsorbant.

Aceste metode sînt semiautomate pentru că, după cum am arătat, extracţia şi adsorbţia se efectuează manual, iar automatizarea se referă la saponificare sau transesterificare şi determinarea glicerolului cu ajutorul sistemului tehnic autoanalyzer care permite determinarea probelor în flux continuu.

Proba de glicerol în H_2SO_4 0,2 N se adaugă în curentul fragmentat de aer şi reacţionează cu acidul periodic. După reducerea excesului de periodat cu arsenit se adaugă acid cromotropic şi se încălzeşte la 95°C, după care se înregistrează absorbţia.

Pentru a putea fi folosite în metodele bazate pe oxidarea cu periodat a glicerolului la formaldehidă, extractele trebuie să fie libere de glucoză, carbohidrat formaldehidogenic a cărui prezenţă poate duce nu numai la rezultate fals crescute, dar şi la o mare variabilitate a acestor rezultate, datorită modificării procentului de glucoză oxidată de la o dozare la alta (251). Astfel, extractele de izopropanol-zeolit (1 g zeolit/1 ml ser) folosite în metoda Lambert şi Neish (238) conţin glucoză care interferă în dozarea trigliceridelor. Unii autori au identificat şi fosfolipide interferente. Îndepărtarea glucozei, fosfolipidelor şi a pigmenţilor interferenţi se face diferenţiat, după metodă. De exemplu, îndepărtarea substanţelor menţionate se poate face prin creşterea cantităţii de zeolit la 6 mg/1 ml ser, sau prin adăugarea a 4 g amestec-zeolit + sulfat de cupru + hidroxid de calciu şi reactiv Lloyd la 1 ml ser. $CuSO_4$ şi $Ca(OH)_2$ au rolul de a îndepărta carbohidraţii, iar reactivul Lloyd serveşte la îndepărtarea bilirubinei şi a fosfolipidelor (261). Blancurile de ser, constînd în probe nesaponificate, sînt obligatorii în cazul extractelor izopropanolice, dar nu şi a extractelor în cloroform-acid silicic sau izopropil eter-acid silicic pentru îndepărtarea interferenţilor.

Saponificarea se face în etanol sau izopropanol-etanol. În primul caz nu este obligatorie îndepărtarea ulterioară a etanolului, în cel de al doilea, însă, se procedează la evaporarea solventului înainte de oxidarea cu periodat şi reacţia de culoare cu acid cromotropic, deoarece s-a arătat că izopropanolul în proporţie de 3% produce decolorarea cromogenului. Etanolul sau izopropanolul trebuie să fie libere de aldehidă, iar hidroxidul de potasiu să nu fie contaminat cu glicerol, care măreşte blancul reactivilor, dînd astfel rezultate eronate.

Nu este necesară îndepărtarea colesterolului şi acizilor graşi eliberaţi în timpul saponificării, deoarece nu interferă în dozare.

b. Metode bazate pe reacţia Schryver pentru formaldehidă. Glicerolul este oxidat cu periodat 0,005 M, timp de 10 minute la temperatura camerei şi rezultă formaldehida care, în prezenţa fenilhidrazinei 0,03 M şi a fericianurii 0,005 M în prezenţa acidului clorhidric concentrat, trece în 1,5—difenilformazan (44).

Fazele nepolare produse prin spălarea extractelor hexan-izopropanol şi izopropanol-heptan-acid sulfuric formează stratul superior, deosebit de stratul inferior nepolar cloroform-metanol.

După oxidare la formaldehidă se adaugă fenilhidrazină clorhidrică, iar după 10 minute, fericianura. Soluţia este lăsată 4—5 minute la 0°C, temperatură la care trebuie să se facă adăugarea ulterioară a HCl concentrat. Folosirea acidului clorhidric în locul reactivului acid sulfuric-acid acetic face reacţia de 4 ori mai sensibilă. Reproductibilitatea metodei creşte o dată cu creşterea concentraţiei acidului clorhidric pînă la 60% (265).

Turbiditatea provocată de prezenţa colesterolului şi acizilor graşi în reacţia Schryver poate fi evitată prin adăugarea de izopropanol, chiar înainte de determinarea absorbţiei.

Reacţia de culoare Schryver este mult mai sensibilă decît reacţia cu acid cromotropic, dînd coloraţie la o concentraţie de 0,057 μg/ml, în timp ce a doua dă coloraţie peste concentraţia de 3,35 μg/ml.

Metoda Lloyd şi Goldrick (233), în care se fac dozările pe extracte heptan-izopropanol-acid sulfuric, dă rezultate comparabile cu cele furnizate de metoda Carlson şi Wadström (58).

c) Metode bazate pe determinarea formaldehidei cu reacţia Hantzsch. Principiul reacţiei este următorul : formaldehida reacţionează cu acetatul de amoniu şi acetil-acetona dînd naştere 3,5-diacetil-1,4-dihidrolutidinei, care va fi determinată cantitativ prin metode colorimetrice (86) sau pe baza fluorescenţei sale (267). Dezvoltarea culorii se face după 10—30 minute la 50—60°C, iar cromogenul este stabil la întuneric, dar labil la lumină în metoda Jacobs şi Henry. Condiţiile menţionate sînt similare celor din procedeul Nash (233), în care reacţia se desfăşoară la temperatura de 37°C, timp de 40 de minute, la un pH = 5,5—6,5.

Colesterolul şi acizii graşi eliberaţi după saponificare se consideră că nu interferă în tehnicile bazate pe această reacţie.

Reacţia Hantzsch a fost aplicată şi la metodele automate. În acest caz, extractele izopropanolice sînt tratate cu zeolit, reactiv Lloyd, $CuSO_4$ şi $Ca(OH)_2$, sau cu acid silicic, $CuSO_4$ şi $Ca(OH)_2$, pentru îndepărtarea interferenţilor, după care sînt supuse saponificării cu KOH izopropanolic. Apoi se adaugă periodat de sodiu în acid acetic şi acetilacetonă în acetat de amoniu. Glicerolul este oxidat la formaldehidă, care este apoi convertită în prezenţa amoniacului şi acetilacetonei la 3,5-diacetil-1,4-dihidrolutidină.

Blancurile de ser nesaponificate sînt necesare în majoritatea metodelor în care se foloseşte izopropanolul şi amestec zeolit (251). Claude şi colab. (233) menţionează că blancul serului e neglijabil dacă izopropanolul nu se expune la aer şi lumină, în timp ce Antonis (233) subliniază că extractele izopropanolice tratate cu amestec zeolit conţin încă

glicerol şi alţi metaboliţi, care nu sînt prezenţi în extractele izopropil eter-acid silicic sau cloroform-zeolit (216). Se mai poate folosi, ca solvent, un amestec de nonan-izopropanol —H_2SO_4 0,08 M, în care caz esterii metil ai acizilor graşi, formaţi prin transesterificare, sînt extraşi în nonan, care apoi este îndepărtat împreună cu esterii metil. Interferenţa glucozei şi serinei este neglijabilă. Nu sînt necesare blancuri de ser. Deşi acizii graşi nesaturaţi nu interferă în reacţia fluorimetrică Hantzsch, esterii metil ai acizilor graşi sînt îndepărtaţi automat din amestecul de reacţie. Nivelul compuşilor interferenţi, inclusiv al fosfolipidelor, poate fi redus prin tratarea nonanului cu Florisil.

Metodele bazate pe această reacţie de culoare au următoarele avantaje :

— culoarea poate fi dezvoltată la temperaturi mai scăzute decît în metodele care folosesc acidul cromotropic ;

— necesită mai puţini reactivi, iar aceştia nu sînt corosivi.

d. Metode bazate pe reacţia Pay pentru formaldehidă. Reacţia Pay se bazează pe reacţia de culoare între formaldehidă, 3-metilbenzotiozolin-2-1 şi clorură ferică. Ca solvent de extracţie se foloseşte un amestec izopropanol-diclorometan 8 : 10 care este diluat la 8 : 17 pentru faza de adsorbţie pe zeolit. Deci extracţia şi adsorbţia nu sînt combinate.

METODE BAZATE PE DETERMINAREA GLICEROLULUI GLICERIDIC

a. Metode bazate pe reacţia Skraup pentru glicerol. Glicerolul e încălzit la 170°C cu o-aminofenol şi în prezenţa unui agent oxidant şi a acidului sulfuric, formează 8-hidroxiquinolină.

Fazele de extracţie şi adsorbţie sînt combinate, serul fiind tratat cu un amestec de izopropil eter-acid silicic (266).

Înainte de reacţia Skraup, în urma căreia apare produsul fluorescent amintit, se îndepărtează fosfolipidele, colesterolul şi acizii graşi interferenţi. Metoda Mendelsohn şi Antonis (266) dă rezultate comparabile cu cele furnizate de cromatografia pe coloană de acid silicic după metoda Barron şi Hanahan (5, 233).

b. Metode bazate pe determinarea enzimatică a glicerolului. În acest caz este obligatorie îndepărtarea colesterolului şi a acizilor graşi înaintea reacţiilor enzimatice.

Determinarea enzimatică a glicerolului se poate face prin două metode :

Tehnica Wieland (233) care se bazează pe reacţia glicerolului la $pH = 9{,}4$, în tampon hidrazină cu ATP-ul în prezenţa glicerokinazei, cisteinei şi ionului magneziu cu formare de ADP şi alfa-glicerofosfat. Adăugarea alfa-glicerofosfat-dehidrogenazei determină formarea de dihidroxiacetonă fosfat şi $NaDH_2$. Modificările în absorbţie la 340 nm sînt proporţionale cu concentraţia de glicerol. Schematic reacţiile se pot reprezenta astfel :

$$\text{glicerol} + \text{ATP} \xrightarrow[\text{glicerokinază}]{Mg^{2+}} \text{alfa-glicerofosfat} + \text{ADP}$$

$$\text{NAD}^+ + \text{alfa-glicerofosfat} \underset{\text{glicerofosfat dehidrogenaza}}{\rightleftharpoons} \text{NADH} + \text{H}^+ + \text{dihidroxiacetonă fosfat}$$

Extracţia serului se face cu un amestec de cloroform-metanol 2 : 1, după care urmează etapa de adsorbţie pe acid silicic pentru îndepărtarea interferenţilor. Apoi se aplică procedeul enzimatic menţionat. Comparat cu metoda Carlson şi Wadström, acest procedeu dă aceleaşi rezultate, ceea ce demonstrează specificitatea reacţiei de culoare (202).

Tehnica Garland şi Randle (233). Extracţia trigliceridelor se poate face în cloroform, cloroform-metanol 2 : 1, izopropanol sau soluţie etanolică de KOH 0,5 M şi este combinată cu adsorbţia pe zeolit. Acest procedeu se bazează pe reacţia glicerolului cu ATP-ul la $pH = 7{,}2$ în prezenţa Mg^{2+}, în urma căreia rezultă alfa-glicerofosfat şi ADP. Metoda se bazează pe următoarele reacţii cuplate :

$$\text{glicerol} + \text{ATP} \xrightarrow[\text{glicerokinază}]{Mg^{2+}} \text{alfa-glicerofosfat} + \text{ADP}$$

$$\text{ADP} + \text{fosfoenolpiruvat} \xrightarrow[\text{piruvatkinază}]{} \text{ATP} + \text{piruvat}$$

$$\text{piruvat} + H^+ + \text{NADH} \xrightarrow[\text{lactic dehidrogenază}]{} \text{lactat} + NAD^+$$

Produşii rezultaţi în urma hidrolizei fosfogliceridelor : lecitină, alfa-glicerofosfatul, dipalmitilfosfatidilserina, nu interferă în reacţie. Acest procedeu este specific pentru glicerol deoarece serul nu conţine şi alte substraturi pentru enzimele specifice (glicerokinază, gliceroaldehidă).

Rezultatele obţinute prin metoda Eggstein şi Kreutz (80), cu condiţia ca reactivii să nu conţină impurităţi, sînt în concordanţă cu cele realizate prin procedeul enzimatic Garland şi Randle şi cu cele furnizate de metodele indirecte ca diferenţă între lipidele totale şi colesterol + fosfolipide.

Procedeul Garland şi Randle a fost adoptat la autoanalizor ca metodă semiautomată, în care descreşterea în $NADH_2$ e măsurată fluorimetric. Trigliceridele libere de fosfolipide din extractele de izopropil eter-acid acetic sînt saponificate în etanol.

Metodele enzimatice au fost comparate cu metoda Van Handel şi Zilversmit (216) obţinîndu-se rezultate concordante.

METODE BAZATE PE DETERMINAREA GRUPURILOR ESTER ALE GLICERIDELOR

Cele mai frecvente metode utilizate de determinare a grupurilor ester sînt :

a. Metoda Freeman, care constă în absorbţia în infraroşu la 1 745 cm^{-1} a grupurilor ester ale gliceridelor din extractele purificate de fosfolipide, prin adsorbţie pe coloană de acid silicic (94) ;

b. Metoda Michaels constă în reacţia hidroxilamină-clorură ferică-acid hidroxamic (157).

COMPARAREA METODELOR MANUALE ŞI SEMIAUTOMATE

Rezultatele metodelor semiautomate sînt în concordanţă cu cele obţinute prin metode manuale. Ca metode de referinţă au servit metodele : Van Handel şi Zilversmit (216), Carlson şi Wadström (58), Blankenhorn şi colab. (233) şi metodele enzimatice.

Extractele de izopropil eter-acid acetic, libere de fosfolipide, au furnizat aceleaşi valori pentru conţinutul în trigliceride, cînd dozările s-au făcut prin metodele semiautomate : Lofland (268), bazată pe reacţia cu acid cromotropic după oxidarea cu periodat ; Kessler şi Lederer (251), după saponificare şi oxidare cu periodat şi reacţia Hantzsch cu formarea unui compus fluorescent ; un procedeu enzimatic pentru glicerol.

În mod similar, rezultatele obţinute prin procedeul semiautomat Lofland şi cele date de metoda Kessler şi Lederer au fost în concordanţă cînd substanţele interferente în extractele de izopropanol-zeolit ale primei metode au fost îndepărtate prin creşterea cantităţii de zeolit, sau prin folosirea în locul zeolitului a amestecului zeolit descris de Kessler şi Lederer (251).

Deşi metodele semiautomate prezintă unele avantaje evidente, metodele manuale sînt încă folosite în multe laboratoare de cercetare şi diagnostic, care nu necesită dozarea unui număr mare de probe de rutină sau care nu au acces la dispozitive automate.

PURITATEA REACTIVILOR

Puritatea reactivilor are importanţă fundamentală, deşi uneori este neglijată. Se vor lua în consideraţie, în primul rînd, standardurile de trigliceride (79, 251).

Ca standard primar se recomandă o soluţie de trigliceride pure, care va fi supusă aceloraşi operaţiuni ca şi proba. Glicerolul, care este higroscopic şi manitolul, sensibil la oxidarea cu periodat în urma căreia este oxidat cantitativ la formaldehidă nu reprezintă standarduri adecvate. Van Handel şi Zilversmit (216) au propus un standard preparat din ulei de cereale, dar compoziţia acestuia poate varia parţial, în care caz este necesară purificarea uleiului prin agitare cu zeolit, care are rolul de a îndepărta impurităţile.

Cel mai indicat, ca standard în cazul extractelor cloroformice, este un amestec de trioleină — tripalmitină 2 : 1, care are un grad de nesaturare similar celui al trigliceridelor serice. Totuşi, tripalmitina nu e suficient de solubilă în izopropanol pentru obţinerea standardurilor cu concentraţie de 2,5 mM/l ; deci, trioleina a fost indicată ca standard cu acest solvent (251).

Se recomandă ca solvenţii folosiţi pentru extracţia trigliceridelor să fie „pro analisi" sau proaspăt redistilaţi. Izopropanolul trebuie purificat de aldehidă, iar etilul şi izopropil-eterul să nu conţină peroxid. De asemenea, metanolul şi etanolul, utilizaţi în etapa de saponificare, trebuie să fie liberi de aldehidă.

Uneori hidroxidul de potasiu este contaminat cu glicerol, ceea ce se reflectă într-un blanc mare al reactivilor.

Scanned with OKEN Scanner

Determinarea formaldehidei produse prin oxidarea cu periodat a glicerolului gliceridic în extracte saponificate, care nu conţin fosfolipide, obţinute după metoda Carlson şi Wadström.

În laboratorul nostru se foloseşte cu rezultate foarte bune o adaptare a metodelor Van Handel-Zilversmit (216) şi Carlson-Wadström (58).

Metoda se bazează pe extracţia Carlson a 0,1 ml ser şi aplicarea reacţiei Eegriwe cu acid cromotropic pentru determinarea formaldehidei rezultate în urma oxidării cu periodat a glicerolului gliceridic, după metoda Van Handel şi Zilversmit (216).

Reactivi. a) Amestec de extracţie etanol absolut-eter de petrol 1 : 1 (v/v).

b) Eter de petrol p.a.

c) Amestec etanol absolut-eter de petrol 4 : 1 (v/v).

d) Soluţie alcoolică de hidroxid de potasiu 0,4%. Se prepară zilnic, după necesităţi, în felul următor : se dizolvă 2 g KOH p.a. în alcool etilic 95% redistilat şi se completează volumul la 100 ml cu alcool etilic într-un balon cotat. Apoi, 10 ml din soluţia stoc se diluează la 50 ml cu alcool etilic.

e) Acid sulfuric 0,2 N.

f) Metaperiodat de sodiu 0,05 M. Se dizolvă 1,07 g $NaIO_4$ în 100 ml apă distilată. Se păstrează la temperatura camerei un timp nedefinit.

g) Arsenit de sodiu 0,5 M. Se dizolvă 2,25 g NaOH şi 5 g As_2O_3 apoi se aduce volumul la 100 ml cu apă distilată. Se poate obţine şi prin dizolvarea a 6,496 g $NaAsO_2$ în 100 ml apă distilată. Se păstrează la temperatura camerei timp nedefinit.

h) Acid cromotropic 0,2%. Acest reactiv se prepară în nişă, extemporaneu şi cît mai ferit de lumină. Se adaugă 300 ml H_2SO_4 concentrat peste 150 ml apă distilată, răcindu-se tot timpul vasul de reacţie într-o baie cu gheaţă. După completa adăugare a acidului se agită pînă la omogenizare, după care se adaugă 1 g acid cromotropic (4,5 dihidroxinaftalină 2,7 disulfonic acid sare disodică) dizolvat în prealabil în 100 ml apă distilată. Soluţia de acid cromotropic este filtrată direct peste acidul diluat, răcind în tot timpul adăugării. După completa filtrare se agită pentru omogenizare.

i) Soluţia etalon. Se dizolvă 10 mg trioleină în Cloroform, într-un balon cotat de 100 ml şi se aduce la semn cu cloroform. Se poate folosi, de asemenea, o soluţie alcoolică de glicerol anhidru 1 mg%.

Procedeu. Se transferă 0,1 ml ser sau plasmă bine omogenizată în partea inferioară a unei eprubete de 10 ml, gradată, prevăzută cu dop de sticlă perfect etanş. Se adaugă 2 ml amestec etanol absolut — eter de petrol 1 : 1, agitînd permanent eprubeta prin mişcări repezi în plan orizontal.

Se pun eprubetele într-o baie de apă care fierbe, după înlăturarea flăcării aproximativ 1 minut şi se agită ridicînd din cînd în cînd dopul, deoarece amestecul de extracţie conţine eter de petrol cu punct de fierbere între 40 şi 70°C.

Eprubetele se îndepărtează şi se răcesc la temperatura camerei. Se adaugă 6 ml eter de petrol cu o biuretă, se repun dopurile şi se agită

energic prin răsturnări repetate timp de 1 minut. Se adaugă 1 ml apă distilată în fiecare eprubetă, se repune dopul şi se agită din nou energic prin răsturnări repetate, timp de 1 minut.

După un repaus de 2—3 minute la temperatura camerei, stratul de eter de petrol se separă. Folosind o pipetă Pasteur cu pompă de cauciuc, se transferă cantitativ faza superioară a sistemului binar în eprubete gradate de 16 × 125 mm prevăzute cu dop de sticlă, spălînd de cîteva ori cu cîte 1—2 ml eter de petrol şi transferînd după fiecare spălare, pînă cînd obţinem un volum de 10 ml extract eteric.

Se transferă cîte 2,5 ml extract eteric în două eprubete, una tratată ca probă, cealaltă ca blanc. Atît în probe, cît şi în blancuri, se adaugă 1 ml amestec etanol absolut-eter de petrol 4 : 1 şi se agită energic prin mişcări scurte şi repezi în plan orizontal, timp de 1 minut. Se adaugă 0,1 ml apă distilată, după care se repetă agitarea în acelaşi mod. După un repaus de 2—3 minute la temperatura camerei, se îndepărtează cantitativ faza inferioară a sistemului binar cu o pipetă Pasteur cu pompă de cauciuc sau cu o seringă. Extractul rămas se tratează în acelaşi fel de două ori, apoi se evaporă la sec la 60—70°C.

Începînd cu etapa de saponificare se procedează conform tehnicii Van Handel şi Zilversmit. Probele vor fi saponificate cu cîte 0,5 ml soluţie alcoolică de KOH 0,4%, iar martorii vor fi nesaponificaţi. Standardul care conţine soluţie cloroformică de trioleină se tratează în acelaşi mod cu probele. Martorii, probele şi standardul vor fi apoi tratate identic. După incubarea la 60—70°C timp de 15 minute, pentru saponificare, se adaugă în toate eprubetele cîte 0,5 ml H_2SO_4 0,2 N pentru neutralizare şi cîte 0,5 ml apă distilată necesară evitării pierderii în glicerol, care însoţeşte evaporarea etanolului.

Eprubetele se pun la fiert în baie de apă pentru 15 minute, apoi se îndepărtează şi se lasă la temperatura camerei pentru răcire. Se adaugă 0,1 ml metaperiodat 0,05 M pentru oxidarea glicerolului la aldehidă, iar după 10 minute se opreşte oxidarea prin adăugarea a 0,1 ml arsenit de sodiu 0,5 M. Dacă coloraţia galbenă de iodină, apărută uneori după adăugarea arsenitului, nu dispare în cîteva minute, înseamnă că soluţia nu are concentraţia corespunzătoare şi trebuie refăcută, sau se adaugă în cantitate mai mare.

Se adaugă apoi exact 5 ml reactiv cromotropic, se agită energic, se astupă eprubetele cu dopuri etanşe şi se fierb, ferite de lumină, la temperatura de 100°C, timp de 30 de minute. Se lasă eprubetele 20—30 minute la temperatura camerei pentru răcire. Se citeşte extincţia optică a probelor şi standardului faţă de blancurile corespunzătoare la 570 mμ.

Calculul se face raportînd extincţia probelor la extincţia standardului, după formula :

$$\frac{\text{Extincţia probei}}{\text{Extincţia standardului}} \times 100 = \text{mg trigliceride/100 ml ser}$$

Pentru probele de ser cu o concentraţie mai mare de 300 mg trigliceride/100 ml ser, se repetă determinările după diluarea plasmei iniţiale

cu ser fiziologic 0,15 M. Trebuie să avem grijă să multiplicăm concentrația astfel obținută cu factorul de diluție corespunzător.

Valorile normale variază între 60 și 150 mg trigliceride/100 ml ser.

IV.4.3. DOZAREA FOSFOLIPIDELOR

Metodele mai vechi preconizează dozarea fosfolipidelor în extracte cloroformice. În acest caz, extracția serului se face cu un amestec de cloroform-metanol 2 : 1, în care cloroformul este solvent, iar metanolul deproteinizant. Adăugarea apei de spălare determină un sistem bifazic a cărui fază superioară conține toate substanțele nelipidice, iar faza inferioară toate lipidele. Fosfolipidele prezente în faza cloroformică pot fi determinate prin mineralizare după metoda Youngburg (255), anionul fosfat fiind dozat după metoda Briggs (256). Metoda Fiske și Subbarow (288) indicată în literatura de specialitate ca metodă de referință, prezintă marele dezavantaj că reactivul folosit în reacția de culoare, și anume acidul 1,2,4-aminonaftosulfonic este instabil.

Unii autori au recomandat folosirea în reacția de culoare a unui amestec de molibdat de amoniu și acetat în mediu de acid ascorbic preparat în momentul folosirii. Acest complex prezintă inconvenientul că la adăugarea acidului ascorbic 10% se dezvoltă o culoare galben-verzuie care va da rezultate fals crescute, deoarece se suprapune peste culoarea datorată ionului fosfat. În plus, în cazul probelor cu concentrație mică de fosfolipide, culoarea finală a complexului de fotometrare nu este albastră, ci verde-albăstruie sau chiar verzuie, avînd alt maxim de absorbție.

Noi am adoptat metoda Hoflmayer și Fried (123), care dozează fosfatidele serice sub formă de complex fosfo-molibdenic rezultat în urma mineralizării fosforului lipidic la fosfor anorganic și reacției acestuia cu molibdatul de amoniu.

Reactivi. a) Acid percloric 70%.

b) Acid tricloracetic 5%. Se păstrează la temperatura camerei timp nedefinit.

c) Acid azotic concentrat 65%.

d) Molibdat de amoniu 5% în acid sulfuric 1 N. Se prepară astfel : se dizolvă 5 g molibdat în 10 ml apă distilată, încălzind. După răcire se adaugă 50 ml H_2SO_4 2 N și se completează cu apă distilată la 100 ml. Este stabil la temperatura camerei cîteva luni.

e) Soluție de reducere obținută prin dizolvarea a 2 g hidrochinonă și 7 g metabisulfit de sodiu în 100 ml apă distilată. Este stabil aproximativ 4 săptămîni la frigider.

f) Standard de fosfor care conține 4,25 mg% fosfor, ceea ce corespunde la 100 mg fosfatide/100 ml. Se obține astfel : se dizolvă 18,7 mg KH_2PO_4 într-un balon cotat de 100 ml cu apă distilată, apoi se aduce la semn.

Aparatură. Eprubete 12 × 160 mm.

Eprubete conice de centrifugă.

Baie de ulei de parafină pentru 180°C.
Spekol.

Procedeu. Se pipetează 0,1 ml ser sau plasmă în partea inferioară a eprubetelor conice. Se adaugă 2 ml acid tricloracetic 5% cu o pipetă cu scurgere rapidă, pentru a se permite precipitarea cantitativă a fosfatidelor şi proteinelor.

După 5 minute se centrifughează la 4 000 r.p.m. timp de 10 minute, într-o mică centrifugă clinică. În urma centrifugării, precipitatul, care conţine fosforul lipidic, se depune în partea inferioară a eprubetei, iar fosfaţii anorganici rămîn în soluţia supernatantă şi vor fi îndepărtaţi prin decantarea acesteia.

Precipitatul se tratează cu 0,2 ml acid percloric concentrat, apoi se adaugă două picături de acid azotic concentrat. În acelaşi fel se tratează blancul, care conţine 0,1 ml apă distilată şi standardul, care conţine 0,1 ml soluţie standard.

Toate probele se pun într-o baie de ulei de parafină care conţine ulei în strat cu grosimea de 2—3 cm şi se ţin 15 minute la 180°C, temperatură la care are loc mineralizarea constînd în eliberarea fosforului lipidic sub formă de ion fosfat.

Se îndepărtează eprubetele din baie şi se lasă să se răcească la temperatura camerei. Se adaugă în toate eprubetele cîte 2 ml apă bidistilată, 0,2 ml soluţie molibdat şi 0,2 ml soluţie reducătoare.

Se citeşte extincţia optică a probelor şi standardului faţă de blanc la 570—800 mμ, absorbţia maximă a complexului fosfomolibdenic fiind înregistrată la 720 mμ. Cromogenul este stabil 30 de minute.

Calculul se face conform ecuaţiilor :

$$\frac{\text{Extincţia probei}}{\text{Extincţia standardului}} \times 4{,}25 = \textbf{mg fosfor lipidic/100 ml} \quad (1)$$

$$\text{mg\% fosfor lipidic} \times 23{,}5 = \text{mg\% fosfatide.} \quad (2)$$

Concentraţia normală variază între 150 şi 250 mg/100 ml ser.

IV.4.4. ACIZII GRAŞI LIBERI

Există numeroase metode de dozare a acizilor graşi liberi, cel mai frecvent folosite fiind :

a) Metodele titrimetrice care constau în evaluarea concentraţiei de acizi graşi neesterificaţi, prin titrarea acidităţii libere din extracte cu un hidroxid. Metodele titrimetrice, cel mai frecvent folosite, au însă dezavantajul că sînt greu de aplicat în cazul unor cantităţi mici de material biologic. Amintim din acest grup metoda Davis (277) şi varianta ei Grossman şi colab. (278).

b) Metodele colorimetrice se bazează pe formarea unor complexe de culoare ale săpunurilor de cupru sau ale săpunurilor de cobalt. Metoda Carlson şi Wadström (272) foloseşte o tehnică de separare relativ complexă, din care cauză este dificilă adaptarea ei ca ultramicrometodă.

În metoda Coleman şi Middlebrook (275), intensitatea de culoare care se dezvoltă în etapa finală depinde de compoziţia amestecului de NEFA, avînd însă avantajul că este foarte sensibilă.

Scanned with OKEN Scanner

Metodele bazate pe reacţia de culoare a săpunurilor de cupru : Barreto şi Mano (273) şi metoda Duncombe (274) dau rezultate bune dacă sînt asociate cu metodele cromatografice. Dezavantajul major al acestor metode este interferenţa bilirubinei sau a altor substanţe colorate solubile în solvenţi lipidici. De asemenea, în modificările ultramicro ale acestor metode este dificil să se ia probe de extract cloroformic din faza inferioară, necontaminate de către faza apoasă superioară care conţine un exces de săpunuri de cupru, deoarece volumul stratului cloroformic e mic, ceea ce determină creşterea gradului de contaminare. Sînt de preferat metodele în care extracţia se realizează cu ajutorul unui solvent mai puţin dens decît faza apoasă, care să formeze un strat superior acesteia, mai uşor accesibil.

Ultramicrometodele colorimetrice descrise au fost îmbunătăţite în ce priveşte sensibilitatea şi selectivitatea prin înlocuirea extracţiei în prezenţa sărurilor de cupru cu extracţia în prezenţa sărurilor de cobalt. Cobaltul formează cu NEFA săpunuri care dau reacţie de culoare cu alfa-nitrozo-beta-naftolul. Metoda Novak (270) înlocuieşte nitratul de cupru propus de Duncombe (274) cu nitratul de cobalt. Extracţia se face într-un amestec de alcool izopropilic — heptan. Metoda prezintă avantajul că necesită cantităţi mici de ser, foloseşte stratul superior pentru dozarea acizilor graşi liberi, care este mult mai uşor de manipulat şi elimină interferenţa bilirubinei şi a altor substanţe.

Diferitele metode de dozare a NEFA se deosebesc şi prin solventul sau sistemul de solvenţi folosiţi în extracţie. Astfel, Folch şi colab. (279) au folosit un amestec metanol-cloroform extrăgînd lipidele într-un sistem monofazic convertit ulterior într-un sistem bifazic.

Blankenhorn şi Ahrens (280) au înlocuit cloroformul cu heptan, considerat solvent mai convenabil deoarece extrage lipidele într-o fază superioară, folosind un sistem heptan-etanol.

Metoda de extracţie Dole (271) este o modificare a metodei anterioare care constă în înlocuirea etanolului cu izopropil-alcool, mai eficient în aducerea heptanului şi apei în aceeaşi fază ; într-o etapă ulterioară se practică titrarea aliquotei de heptan, care se desfăşoară într-un al 2-lea sistem bifazic, fără evaporarea preliminară a solventului.

DOZAREA ACIZILOR GRAŞI LIBERI PRIN METODA DOLE (271)

În laboratorul nostru a fost adoptată metoda Dole pentru dozarea acizilor graşi neesterificaţi, deoarece este rapidă şi simplă, cu sensibilitate suficientă pentru titrarea cu acurateţe a acizilor graşi. Cercetările au demonstrat că asigură extracţia cantitativă a NEFA, că acizii graşi liberi reprezintă partea cea mai mare a aciditătii dozate ulterior, dînd rezultate aproape identice cu metoda Davis (277) şi varianta Grossman şi colab. (278).

Reactivi. a) Amestec de extracţie : alcool izopropilic-heptan-H_2SO_4 1 N (40 : 10 : 1, v/v). Solvenţii trebuie redistilaţi.

În ce... necesar să se ... pentru a caracteriza ... mai simple turbidimetrice sau colorimetrice; sînt rapide, ...

b) *Metode turbidimetrice*; sînt rapide, ... concordă cu cele furnizate de metodele gravimetrice. Metodele ... kel (286) evaluează lipidele totale prin măsurarea turbidității în mediu cu fenol. Studiile comparative (294) au arătat că valorile obținute prin această metodă nu corespund cu valorile lipidelor totale calculate. Se apreciază că turbidimetria furnizează rezultate aproximative și nu cantitative, cu excepția serurilor cu concentrație normală de trigliceride. Totuși precizia este suficientă pentru laboratoarele de rutină.

c) *Metode colorimetrice*. S-a propus o metodă bazată pe reacția de culoare dată de lipide cu vanilină, folosind sulfofosfovanilină.

Metodele cu acid fosforic-vanilină au avantajul că necesită cantități mici de ser (0,05—0,1 ml ser), sînt rapide și dau rezultate comparabile cu metodele gravimetrice. Totuși, sînt mai puțin sensibile decît acestea.

DOZAREA LIPIDELOR TOTALE PRIN METODA DREVON ȘI SCHMIT (285)

În laboratorul nostru se dozează lipidele totale plasmatice prin metoda colorimetrică Drevon și Schmit (285), variantă a metodei Chabrol și Chavonnat (282)

Reactivi. a) Acid sulfuric concentrat p.a., cu densitate 1,84.

b) Acid fosforic p.a. cu densitate 1,70—1,75.

c) Vanilină 40 mM obținută prin dizolvarea a 0,6 g vanilină în 100 ml apă bidistilată.

d) Standard de trioleină în cloroform cu concentrația 500 mg/100 ml. Este stabil la întuneric maxim 30 de zile.

Procedeu. În eprubete obișnuite se pipetează 0,1 ml plasmă și 0,1 ml standard. Se adaugă 2 ml acid sulfuric concentrat și se agită complet. Se pun eprubetele în baie de apă care fierbe exact 10 minute, apoi se răcesc prompt într-o baie de apă și gheață.

Se pipetează 0,1 ml amestec plasmă-H_2SO_4 sau amestec standard-H_2SO_4 în alte eprubete obișnuite pentru probe și, respectiv, pentru standard. În martor se pun 0,1 ml H_2SO_4. În toate eprubetele se adaugă cîte 2 ml acid fosforic și 0,5 ml vanilină. Se agită și se țin la termostat timp de 15 minute la 37°C. Se răcesc scurt în apa curentă și în decurs de 15 minute se măsoară extincția probelor și a standardului față de blank la 530 nm.

Se calculează concentrația de lipide totale plasmatice după formula:

$$\frac{\text{Extincția probei}}{\text{Extincția standardului}} \times 500 = \text{mg lipide totale/100 ml ser.}$$

Valorile normale variază între 500 și 800 mg lipide totale/100 ml ser.

b) Amestec de titrare. Soluţia stoc de albastru de timol 0,1% în apă. Soluţia de lucru se obţine prin diluarea soluţiei stoc 1 : 9 cu alcool absolut redistilat.

Aciditatea titrabilă a etanolului creşte uşor după un interval de cîteva zile, de aceea este necesară reducerea la o valoare minimă prin neutralizarea cu un hidroxid. Pentru a elimina bioxidul de carbon din sistem în timpul titrării este necesară menţinerea unei aciditâţi uşoare, echivalentă cu aproximativ 2 λ NaOH 0,018 N pentru 1 ml amestec de titrare.

c) Soluţia alcalină : NaOH 0,018 N obţinută prin diluarea 1/100 a NaOH saturat cu apă distilată care nu conţine bioxid de carbon. Hidroxidul se prepară extemporaneu şi este etalonat prin extracţia şi titrarea standardului de acid palmitic recristalizat în heptan.

d) Standard de acid palmitic cu concentraţia 0,0128 g%.

Procedeu. Se adaugă 5 ml amestec de extracţie la 1 ml plasmă într-o eprubetă cu dop de sticlă şi se agită energic.

După un repaus de minimum 10 minute, sistemul monofazic este transformat în sistem bifazic prin adăugarea a 2 ml heptan şi 30 ml apă. Se agită din nou energic. Se lasă în repaus pentru separarea fazelor care se delimitează rapid, fără să necesite centrifugarea.

Se transferă o aliquotă de 3 ml din faza superioară într-o eprubetă conică de centrifugă de 15 ml care conţine 1 ml amestec de titrare. Se face titrarea cu hidroxid în prezenţa azotului gazos, eliberat spre partea inferioară a eprubetei printr-un capilar fin de sticlă, care are rolul de a elimina CO_2 din probă şi a menţine cele două faze amestecate în timpul titrării. Din timp în timp se întrerupe curentul de azot pentru examinarea culorii indicator galben-verzuie în faza alcoolică. Cînd este posibil, se face citirea culorii finale în lumina dată de o lampă fluorescentă plasată în apropierea eprubetei.

Concentraţia normală a acizilor graşi neesterificaţi variază între 375 şi 700 μEq/l.

IV.4.5. LIPIDE TOTALE

Există în prezent numeroase metode de dozare a lipidelor totale, care pot fi clasificate astfel :

A) *Metode indirecte;* se bazează pe calcularea concentraţiei de lipide totale prin însumarea concentraţiei de colesterol, fosfolipide, trigliceride şi acizi graşi liberi. Studiile comparative (294) au arătat că valorile calculate sînt apropiate de cele obţinute prin dozare la subiecţii normolipemici şi la cei cu hiperlipoproteinemie tip II, III şi IV, dar în cele tip I sau V dau valori mult mai mici decît cele furnizate de metoda Kunkel (286), datorită factorului de diluţie.

B. *Metode directe* care se pot subdiviza în :

a) *Metode gravimetrice,* indicate în literatură ca metode de referinţă, şi care constau în extracţia lipidelor totale din plasmă sau ser, purificarea extractelor, evaporarea completă a solventului sau sistemului de solvenţi folosiţi la extracţie şi cîntărirea reziduului lipidic (287,

283, 284). Acestea sînt metodele cel mai frecvent folosite, datorită specificității și exactității lor. Fiind însă foarte laborioase nu se pot adopta în laboratoarele de rutină pentru efectuarea unui număr mare de probe.

În cercetările asupra aterosclerozei și în laboratorul clinic nu este necesar să se cunoască foarte exact cantitatea de lipide totale plasmatice pentru a caracteriza dislipemia. Din acest motiv, se preferă metodele mai simple turbidimetrice sau colorimetrice.

b) *Metode turbidimetrice;* sînt rapide, dar rezultatele lor nu concordă cu cele furnizate de metodele gravimetrice. Metoda Kunkel (286) evaluează lipidele totale prin măsurarea turbidității în mediu cu fenol. Studiile comparative (294) au arătat că valorile obținute prin această metodă nu corespund cu valorile lipidelor totale calculate. Se apreciază că turbidimetria furnizează rezultate aproximative și nu cantitative, cu excepția serurilor cu concentrație normală de trigliceride. Totuși precizia este suficientă pentru laboratoarele de rutină.

c) *Metode colorimetrice.* S-a propus o metodă bazată pe reacția de culoare dată de lipide cu vanilină, folosind sulfofosfovanilină.

Metodele cu acid fosforic-vanilină au avantajul că necesită cantități mici de ser (0,05—0,1 ml ser), sînt rapide și dau rezultate comparabile cu metodele gravimetrice. Totuși, sînt mai puțin sensibile decît acestea.

DOZAREA LIPIDELOR TOTALE PRIN METODA DREVON ȘI SCHMIT (285)

În laboratorul nostru se dozează lipidele totale plasmatice prin metoda colorimetrică Drevon și Schmit (285), variantă a metodei Chabrol și Chavonnat (282)

Reactivi. a) Acid sulfuric concentrat p.a., cu densitate 1,84.

b) Acid fosforic p.a. cu densitate 1,70—1,75.

c) Vanilină 40 mM obținută prin dizolvarea a 0,6 g vanilină în 100 ml apă bidistilată.

d) Standard de trioleină în cloroform cu concentrația 500 mg/100 ml. Este stabil la întuneric maxim 30 de zile.

Procedeu. În eprubete obișnuite se pipetează 0,1 ml plasmă și 0,1 ml standard. Se adaugă 2 ml acid sulfuric concentrat și se agită complet. Se pun eprubetele în baie de apă care fierbe exact 10 minute, apoi se răcesc prompt într-o baie de apă și gheață.

Se pipetează 0,1 ml amestec plasmă-H_2SO_4 sau amestec standard-H_2SO_4 în alte eprubete obișnuite pentru probe și, respectiv, pentru standard. În martor se pun 0,1 ml H_2SO_4. În toate eprubetele se adaugă cîte 2 ml acid fosforic și 0,5 ml vanilină. Se agită și se țin la termostat timp de 15 minute la 37°C. Se răcesc scurt în apa curentă și în decurs de 15 minute se măsoară extincția probelor și a standardului față de blank la 530 nm.

Se calculează concentrația de lipide totale plasmatice după formula :

$$\frac{\text{Extincția probei}}{\text{Extincția standardului}} \times 500 = \text{mg lipide totale/100 ml ser.}$$

Valorile normale variază între 500 și 800 mg lipide totale/100 ml ser.

IV.4.6. METODE CROMATOGRAFICE

Metodele cromatografice sînt metode analitice fizico-chimice de separare în zone concentrate şi faze diferite a unor componente chimice dintr-un amestec complex, în scopul identificării şi dozării lor.

În domeniul metabolismului lipidic cromatografia este folosită pentru purificarea extractelor lipidice de contaminanţii nelipidici şi separarea gangliozidelor. Substanţele nelipidice sînt reprezentate prin substanţe solubile în apă (glucide, aminoacizi, săruri anorganice), care sînt extrase din probă o dată cu lipidele datorită apei prezente în ţesuturi, sau prin substanţe solubile în solvenţii sau amestecurile de extracţie (cloroform, cloroform-metanol). Acetatul de potasiu şi cel de magneziu, spre exemplu, sînt solubili în anumiţi solvenţi organici chiar în absenţa lipidelor, datorită numărului mare de legături de hidrogen cu solvenţii.

Pentru determinările cantitative precise, metodele cromatografice sînt de preferat altor metode. Metoda Folch (87, 88) înlocuieşte o sare prin altă sare în extract. În metoda Blight (30) se pot pierde lipide în faza apoasă. În ambele metode se pot pierde gangliozide, care apar atît în faza superioară, cît şi în cea inferioară.

Separarea claselor majore de lipide (fosfolipide, lipide neutre şi glico-sfingolipide) ca şi îndepărtarea colesterolului din esterii metil, în reacţiile de transesterificare, se face preferenţial pe coloane de acid silicic, care se pretează bine separărilor mai simple. Metoda Hirsh şi Ahrens (120) folosită pentru separarea lipidelor neutre din probe mari de plasmă sanguină poate fi înlocuită în cazul unor probe mici de plasmă prin metoda Freeman (94) care furnizează fracţiuni pure pentru spectrofotometria în infraroşu.

Extracte libere de contaminanţi nelipidici furnizează cromatografia pe coloană de gel de dextran tip Sephadex. În cromatografia de partiţie care repartizează selectiv componenţii dintr-un amestec pe baza coeficientului de repartiţie diferit — între două faze lichide parţial miscibile, Sephadexul prezintă, în comparaţie cu celuloza obişnuită, avantajul că are capacitate mult mai mare de reţinere a amestecului apă-metanol cînd cloroformul este trecut pe coloană (263).

Sephadexul lipofilic LH-20, folosit în tehnica Maxwel şi Williams (155) pentru separarea lipidelor dintr-un amestec, se pare că nu este suficient de eficient în separarea gangliozidelor de celelalte lipide din extract. Fracţionarea lipidelor din amestec se bazează mai puţin pe fenomenul de absorbţie considerat multă vreme ca determinant şi mai mult pe forma şi mărimea moleculelor în cazul folosirii unui singur solvent pentru eluarea lipidelor şi pe coeficientul de repartiţie diferit în cazul folosirii unor sisteme multiple de solvenţi. În primul caz, avem de-a face cu o cromatografie de pătrundere bazată pe fenomenul de polaritate ; în al doilea caz, cu o cromatografie de partiţie într-un sistem lichid-lichid. Sephadexul lipofilic nu este indicat în fracţionarea fosfolipidelor, deoarece asigură numai separarea acestora de celelalte clase de lipide.

Scanned with OKEN Scanner

Williams şi Merrilees (226) recomandă cromatografia pe Sephadex ordinar G-25, care se adaugă direct în extractul lipidic. Metoda are avantajul că elimină necesitatea realizării coloanei cromatografice şi este foarte eficientă. Deşi gangliozidele sînt adsorbite de către Sephadex, ele pot fi recuperate, dacă e nevoie, prin eluare cu cloroform-metanol (19 : 1) — acid acetic glacial (5 : 1) saturat cu apă.

Pentru separarea corespunzătoare a fosfolipidelor, se aplică întîi cromatografia pe coloană de acid silicic, urmată apoi de cromatografia în strat subţire uni- sau bidimensional. Pentru fosfolipidele acide se face eluţia coloanei de acid silicic cu cloroform-metanol 3 : 1, iar pentru fosfolipidele neutre cu metanol. Fosfolipidele sînt obţinute prin fracţionarea extractelor de lipide totale în lipide neutre, glicosfingolipide şi fosfolipide pe coloană de acid silicic după metoda Rouser (182, 183) şi eluare cu cloroform pentru lipidele neutre, acetonă şi acetat de etil-acetonă pentru glicosfingolipide şi metanol pentru fosfolipide.

Cromatografia în strat subţire bidimensional este metoda cea mai indicată în determinările cantitative de fosfolipide, dar în cele mai multe cazuri, în special cînd componentele sînt sub formă de urme, acest tip de cromatografie urmează cromatografiei pe coloană care concentrează substanţele respective, anulînd capacitatea limitată a metodei de determinare a urmelor de substanţe dintr-un amestec complex de lipide fără concentrare prealabilă prin alte metode.

Concentrarea urmelor de fosfolipide se face corespunzător prin cromatografia pe coloană de răşini schimbătoare de ioni, de exemplu dietil-aminoetil- şi trietilaminoetil-celuloza sînt folosite pentru separarea lipidelor polare. În funcţie de caracteristicile de eluţie, metoda Rouser separă în ordinea următoare :

— fosfolipidele neutre (sfingomielina, lecitina, lizolecitina) ;
— fosfolipidele foarte slab acide (fosfotidiletanolamina şi derivaţii ei N-metil) ;
— acizii graşi liberi foarte slabi, puţin polari ;
— acizii graşi liberi foarte slabi, mai polari (fosfatidilserina) ;
— acizii puternici (acid fosfatidic).

Pentru determinarea lipidelor intacte, se recomandă cromatografia în strat subţire, de silicagel, fosfolipidele şi glicosfingolipidele pretîndu-se mai bine la cromatografia în strat subţire bidimensional, cu excepţia gangliozidelor, pentru care se preferă cromatografia în strat unidimensional.

IV.4.7. METODE SPECTROMETRICE

Unul din mijloacele larg utilizate în ultimii ani, în investigarea metabolismului lipidic, este spectrometria în infraroşu, care are ca principală caracteristică un conţinut bogat în informaţii despre structura moleculară care este implicată în spectrul infraroşu al unei substanţe date.

Spectrul reprezintă manifestarea frecvenţelor de radiaţie ale atomilor sau moleculelor în stare excitată în urma absorbţiei de către sub-

stanţa respectivă şi care, în infraroşu, corespund frecvenţelor de oscilaţie internă a moleculelor. Spectrul rezultat în urma trecerii radiaţiilor din domeniul infraroşu prin substanţă este aşa-numitul „spectru de absorbţie" şi este caracteristic fiecărei substanţe, analiza matematică a spectrului oscilant permiţînd observarea modurilor de oscilaţie şi, pe această bază, stabilirea sau verificarea aspectelor arhitecturale ale moleculelor individuale.

Interpretarea spectrelor de absorbţie depinde de variabilitatea detaliilor spectrale. Anumite clase de lipide cu aspect spectral caracteristic pot fi identificate fără compararea cu un anumit număr de curbe de referinţă, pe baza corelaţiilor de grup din care se deduc aspectele spectrale semnificative. Corelaţiile de grup sînt oscilaţii de absorbţie caracteristice deja stabilite, asociate cu diferite tipuri de legături (C—H ; O—H ; N—H), grupe funcţionale (carbonil, hidroxil) sau aspecte structurale (cicluri ; izomerii cis şi trans). Chiar cînd nu este posibilă identificarea completă a substanţei numai pe baza spectrului, cunoaşterea oscilaţiilor caracteristice permite recunoaşterea indicilor spectrali şi face posibile deducţii asupra structurii chimice a substanţei. Acizii graşi cu lanţ lung şi derivaţii lor, spre exemplu, sînt greu diferenţiaţi, deoarece au un detaliu spectral restrîns, datorat grupărilor metilen adiţionale şi dublelor legături care nu sînt uşor perceptibile.

Spectrul infraroşu al substanţei este reprezentat ca grafic al emiterii de radiaţii la o lungime de undă de interval bine definit. Intervalul de cea mai mare importanţă al spectrului infraroşu, întrucît se referă la zona în care se situează cea mai mare parte a modurilor fundamentale de oscilaţie moleculară în moleculele organice, este cuprins între 2,5 şi 16 μm ceea ce corespunde, exprimat în unităţi de frecvenţă (sau lungime de undă echivalentă), la 4 000 şi 625 cm^{-1}.

Pentru identificarea specifică s-a alcătuit un catalog al spectrelor de referinţă, care serveşte la compararea directă şi s-a subdivizat spectrul infraroşu în concordanţă cu clasificarea generală a tipurilor de oscilaţie în următoarele intervale :

— 2,5—4,2 μm (4 000—2 400 cm^{-1}) cuprinde oscilaţiile care se referă la legăturile de hidrogen (O—H ; N—H ; C—H ; S—H) ;
— 4,2—6,5 μm (2 400—1 550 cm^{-1}) cuprinde vibraţiile care se referă la legăturile multiple (C≡C ; C=N ; C=C ; C=O) ;
— 6—16 μm (1 550—625 cm^{-1}) cuprinde vibraţiile care se referă la legături de hidrogen şi legături unice (C—C ; C—O).

Zona spectrală situată între spectrul vizibil şi limita de 2,5 μm a spectrului infraroşu este definită ca „spectru apropiat de infraroşu" şi are unele aplicaţii în domeniul lipidelor. Benzile de absorbţie din această regiune sînt mult mai slabe, deoarece în mare parte ele sînt nuanţe sau combinaţii ale frecvenţelor fundamentale. Experimental, spectrul apropiat de infraroşu se obţine cu aparatură şi tehnici asemănătoare celor folosite în spectrometria din domeniul vizibil (269).

Principiile de bază ale spectrometriei sînt aceleaşi în regiunea infraroşie, vizibilă şi ultravioletă. Pentru nivelul spectral definit ca infraroşu se găseşte o varietate de spectrofotometre. Indiferent de caracteristicile

comerciale, de complexitate, performanţă, spectrofotometrele au elementele de bază comune :

a) o sursă de radiaţie termală reprezentată printr-un fir de nichelcrom sau o tijă nemetalică încălzită de un curent electric ;

b) un monocromator care dispersează în spaţiu cu ajutorul unei prisme sau al unei grile de difracţie radiaţia focalizată de la sursa de radiaţie. Spectrul astfel format este refocalizat în planul deschizăturii de ieşire, care permite trecerea numai a radiaţiilor dintr-un interval limitat al lungimii de undă. Localizarea benzii spectrale care iese din monocromator este dirijată de geometria sistemului şi poate fi modificată prin schimbarea unei legături unghiulare a prismei sau grilei în monocromator, iar mărimea intervalului este determinată prin puterea de dispersie a prismei sau grilei şi prin mărirea deschizăturii reale.

Primele spectrofotometre foloseau prisme de clorură de sodiu ale căror limite funcţionale acoperă regiunile fundamentale de oscilaţie ale spectrului. Deoarece NaCl are putere de rezoluţie scăzută la lungime de undă mai scurtă, treptat, prismele au fost înlocuite cu grile de difracţie, care au putere de rezoluţie mai mare. Înlocuirea prismelor de către grătare a fost însoţită de înregistrarea spectrului pe o scală a frecvenţelor lineare care, în comparaţie cu scala lungimilor de undă lineare, extinde regiunile de înaltă frecvenţă şi restrînge regiunile de frecvenţă joasă ;

c) deoarece producţia de radiaţie în monocromator este mică (de ordinul microwaţilor) este necesară folosirea unui detector termal de radiaţie foarte sensibil, care transformă energia incidentă în semnal electric. Semnalul electric amplificat dirijează sistemul de înregistrare ;

d) sistemul de măsurare implică înregistrarea spectrului în timpul explorării continui.

În afara componentelor de bază, spectrofotometrele sînt prevăzute cu dispozitive adiţionale care permit înregistrarea continuă şi automată a spectrului. Se foloseşte frecvent un sistem cu rază dublă, în care sursa de radiaţie este dirijată pe două căi, pe una din căi fiind aşezată proba, iar pe cealaltă blancul cu alt sistem de referinţă corespunzător. Cele două raze intră alternativ în monocromator şi fiecare generează un semnal propriu. Cînd cele două semnale sînt egale, emiterea este înregistrată ca 100%. Cînd însă absorbţia în raza probei este mai mare, iau naştere semnale alternative care adaptează un atenuator în raza de referinţă pentru restaurarea balanţei intensităţii. Deplasarea atenuatorului antrenează sistemul de înregistrare într-o poziţie care corespunde absorbţiei în raza probei. Dacă pierderile din calea probei sînt balansate corespunzător, valoarea indicată de sistemul de înregistrare este transmisia probei.

Pentru înregistrarea unui spectru peste limitele lungimii de undă specificate, se modifică lungimea de undă prin rotirea grilei, iar deschizătura monocromatorului este lărgită pentru a menţine un nivel constant de energie de fond şi în acelaşi timp se sincronizează înregistrarea spectrogramei aşa încît abscisa să corespundă lungimii de undă care

a pătruns în monocromator, iar transmisia să fie măsurabilă ca valoare pe ordonată.

De remarcat că viteza de determinare poate afecta curba rezultantă, din care cauză este necesar ca intervalul de timp să fie suficient de mare încît să permită sistemului de înregistrare să răspundă.

Spectrul infraroşu poate servi pentru identificarea specifică sau ca tip al unui compus pur izolat, pentru caracterizarea amestecurilor în ce priveşte componenţii potenţiali şi pentru demonstrarea prezenţei sau absenţei unei anumite grupări chimice particulare, sau unor anumite aspecte structurale.

IV.5. DETERMINAREA LIPOPROTEINELOR ÎN SÎNGE

Studiul lipoproteinelor plasmatice furnizează cheia diagnosticului diferenţial al hiperlipoproteinemiilor şi, în acelaşi timp, orientează terapeutica generală dietetică şi farmacologică a diferitelor tipuri de afecţiuni, deoarece cantitatea fiecărei familii de lipoproteine (HDL, LDL, VLDL şi chilomicroni) şi proprietăţile lor specifice fizico-chimice par să reflecte mai clar starea clinică a unui individ decît determinarea numai a lipidelor plasmatice. De egală importanţă, măsurarea lipoproteinelor permite evaluarea eficienţei tratamentului.

Există multe metode pentru izolarea şi caracterizarea lipoproteinelor bazate pe proprietăţile lor specifice, determinate de asocierea particulară a proteinelor cu lipidele care permit separarea lor. Dintre acestea menţionăm : precipitarea cu ajutorul anticorpilor şi polianionilor nespecifici, electroforeza, ultracentrifugarea, cromatografia, fragmentarea cu săruri în prezenţa etanolului. Însă, indiferent de tehnica de separare, lipoproteinele sînt invariabil raportate la cele obţinute prin cele două metode de referinţă caracterizate printr-un înalt grad de adaptabilitate şi prin capacitatea de a conduce la diferenţierea celor 5 tipuri de hiperlipoproteinemie.

Prima metodă de referinţă este aceea bazată pe flotare şi constă în ultracentrifugare, singură sau în combinaţie cu modelul analitic, care devine tot mai strîns legat de idealul de definire a hiperlipoproteinemiilor. Ultracentrifugarea analitică, care poate determina cantitativ un număr aproape nelimitat de clase Sf diferenţiate prin variaţii extrem de mici în densitatea lor, are capacitatea de a satisface necesităţile curente ale multor studii experimentale sau clinice. Dar, grupul lipoproteinelor importante în lucrările clinice este restrîns la 4 familii principale : alfa-lipoproteinele (cu densitate mare), beta-lipoproteinele (cu densitate joasă), prebeta-lipoproteinele (cu densitate foarte joasă) şi chilomicronii. Deşi această subdivizare este acceptată unanim, nu există un acord deplin asupra modului în care aceste grupuri de lipoproteine sînt raportate unul faţă de altul şi dacă conţin subgrupuri cu un comportament metabolic independent, care ar face necesară reconsiderarea lor faţă de cele 4 clase

admise. Aceste incertitudini duc la necesitatea extinderii standardurilor imunochimice pentru investigarea conţinutului şi măsurarea purităţii lipo-proteinelor izolate prin diferite procedee. Ultracentrifugarea preparativă duce la obţinerea unor modele cantitative de lipoproteine, dar pentru o singură probă de plasmă sînt necesare 3 sau 4 serii de centrifugări urmate de determinarea lipidelor.

A doua metodă de referinţă este electroforeza, cu valoare semicantitativă, însă mult mai accesibilă în multe laboratoare, datorită adaptabilităţii la tipizarea unui mare număr de subiecţi şi unei maxime economicităţi. Simpla cercetare vizuală a benzilor de fracţionare electroforetică permite recunoaşterea imediată a celor mai multe modele normale şi a unor anomalii ale tipurilor specifice de hiperlipoproteinemie. Numai definirea anomaliilor de graniţă şi precizarea diagnosticului unor tipuri mai puţin definite impune asocierea electroforezei cu alte determinări.

Alături de electroforeză şi ultracentrifugare, observarea plasmei de repaus este o metodă simplă şi foarte comodă de apreciere a unor familii de lipoproteine.

Pentru determinarea lipoproteinelor se poate folosi ser sau plasmă, aceasta din urmă fiind preferată deoarece poate fi menţinută la rece din momentul recoltării. Proba ideală este reprezentată de plasma menţinută constant la 0—4° şi analizată în aceeaşi zi cu recoltarea (27). În aceste condiţii, plasma nu poate fi folosită decît maximum 7 zile, în timp ce în condiţii particulare de refrigerare a probelor sterile păstrarea poate fi prelungită chiar peste 30 de zile. Excepţie fac numai probele cu conţinut mare de VLDL sau chilomicroni a căror stabilitate este limitată la numai cîteva zile, deoarece păstrarea îndelungată este însoţită de formarea unor agregate de particule endogene care rămîn la origine fiind confundate cu chilomicronii. Nu se recomandă păstrarea la temperatura de îngheţ care alterează modelele lipoproteice, afectînd îndeosebi fracţiunea VLDL şi cea a chilomicronilor. Pentru studiul LDL şi HDL pot fi folosite probe de ser dezgheţate o singură dată.

IV.5.1. OBSERVAREA PLASMEI — TESTUL CHILOMICRONILOR

Prezenţa în sînge a chilomicronilor, beta-VLDL sau a unei cantităţi crescute de VLDL, produce creşterea turbidităţii plasmei. Aceasta îşi pierde claritatea devenind opalescentă sau lactescentă. Dacă se păstrează timp de 24 h la +4°C, chilomicronii formează în eprubetă un supranatant, sub forma unui inel sau guler cremos (testul chilomicronilor pozitiv). VLDL care au o densitate mai mare decît chilomicronii, rămîn dispersate omogen în infranatant. De regulă, creşterea turbidităţii plasmei se evidenţiază în momentul în care trigliceridele

(din VLDL, beta-VLDL sau chilomicroni) depășesc concentrația de 250 mg%.

Bazați pe aceste fenomene, s-a propus (19, 22, 23, 233) observarea plasmei, în condiții standard, ca o metodă importantă în explorarea tipurilor de HLP.

TEHNICĂ

Plasma provenită de la bolnavul aflat în condiții bazale, este păstrată timp de 24 h la temperatura de +4°C, după care se examinează. În funcție de fracția lipoproteinică care este crescută, se obțin următoarele aspecte corelative cu tipul HLP (tabelul IV.3 și fig. IV.1):

Tabelul IV-3

Aspecte caracteristice ale plasmei corespunzătoare tipurilor de hiperlipoproteinemie

Tipul HLP	Aspecte caracteristice ale plasmei	Semnificație biochimică
I	● *SUPRANATANT:* guler cremos ● *INFRANATANT:* clar	→ Test chilomicronic pozitiv → TG foarte mult crescute → VLDL : normale
II-a	● CLARĂ	→ TG: normale deoarece chilomicronii sînt absenți iar VLDL sînt în concentrație normală. Hiper LDL nu produce modificări
II-b	● OPALESCENȚĂ DIFUZĂ (frecvent) ● LACTESCENȚĂ DIFUZĂ (rar) ● CLARĂ (rar)	→ VLDL ↑ ↑ = TG > 250 mg% ↑ ↑ ↑ = TG > 400 mg% → VLDL ↑ = TG < 250 mg%
III	● {OPALESCENȚĂ / LACTESCENȚĂ} DIFUZĂ (frecvent) ● *SUPRANATANT:* guler cremos; *INFRANATANT:* opalescent / lactescent (mai rar)	→ βVLDL ↑ ↑ = TG > 250 – 400 mg% → Test chilomicronic fals pozitiv datorită β-VLDL care fiind în concentrație foare crescută se pot separa la suprafață (TG mult crescute)
IV	● {OPALESCENȚĂ / LACTESCENȚĂ} DIFUZĂ (frecvent) ● CLAR (excepțional)	→ VLDL ↑ ↑ ↑ (TG > 250 > 400 mg%)* (sau mai mult) → VLDL ↑ (TG < 250 mg%) (efect terapeutic)
V	● *SUPRANATANT:* guler cremos; *INFRANATANT:* {opalescent / lactescent} aspect tipic · clar (excepțional)	→ Test chilomicronic pozitiv → VLDL ↑ ↑ → VLDL moderat crescute* (TG < 250 mg%); eventualitate foarte rară (efect terapeutic)

* Concentrația trigliceridelor este estimativă.

a) *HLP tip I.:* plasma este separată într-un supranatant și un infranatant. Supranatantul are aspect de inel sau guler cremos, fiind alcătuit din chilomicroni (testul chilomicronilor pozitiv). Infranatantul este clar.

b) *HLP tip II-A:* plasma este clară.

c) *HLP tip II-B:* mai frecvent, plasma este difuz opalescentă, dar în funcție de concentrația TG-VLDL, poate fi clară (TG < 250 mg%) sau difuz lactescentă, eventualitate mai rar întîlnită, produsă de o creștere importantă a TG-VLDL.

d) *HLP tip III.:* aspectul plasmei este decis de concentrația și proprietățile fizico-chimice ale beta-VLDL. Astfel, se produce fie opalescență sau lactescentă difuză, fie separarea beta-VLDL, într-un supranatant sub forma unui guler cremos. Acesta poate fi confundat cu gulerul chilomicronic (test chilomicronic fals pozitiv). Fenomenul se datorează densității mici a beta-VLDL, care în timp de 24 h se ridică la suprafața eprubetei.

e) *HLP tip IV.:* TG-VLDL, dispuse difuz în întreaga eprubetă, produc o opalescență sau lactescență difuză. Rareori, cînd TG sînt sub concentrația de 250 mg%, plasma este clară.

f) *HLP tip V.:* chilomicronii și VLDL în concentrație crescută produc un aspect tipic: supranatant format dintr-un guler chilomicronic și un infranatant, difuz opalescent sau lactescent și excepțional clar (efect terapeutic).

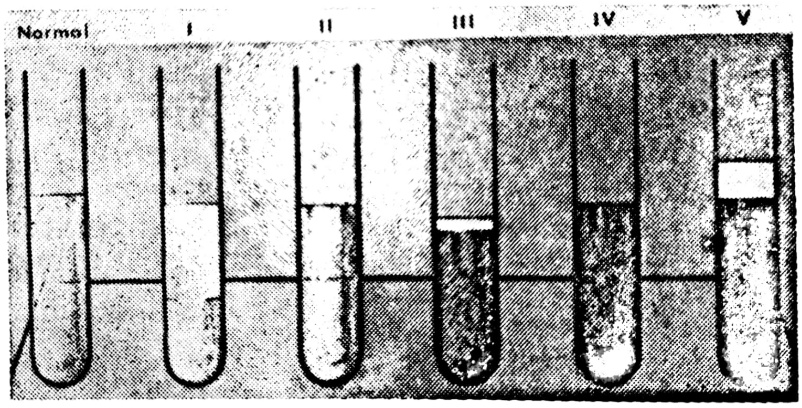


Fig. IV.1 — Aspectele caracteristice ale plasmei, conservată în condiții standard (24 de ore la +4°C); cifrele romane (I—V) indică tipurile de HLP.

IV.5.2. METODE ELECTROFORETICE

Încărcarea electrică de suprafață a complexelor lipoproteice constituie baza separării familiilor de lipoproteine prin metode electroforetice. Lipoproteinele „fenotipice" dau o electroforeză cu 4 benzi de lipoproteine majore a căror mobilitate electroforetică depinde de 2 factori (67):

— în primul rînd, de sarcina electrică netă pe o moleculă lipoproteică, rezultată din balanța de sarcini pozitive și negative de pe aminoacizii terminali și subunitățile de lanțuri peptidice. Încărcarea adițională este dată de cationii metalici adsorbiți și anionii acizilor grași și numai în mică măsură de fosfolipidele care nu se disociază la valorile *p*H-ului electroforetic (224);

— în al doilea rînd, de interacţiunea lipoproteinelor cu mediul de migrare. Astfel, în electroforeza liberă, fără mediu suport, lipoproteinele au aceeaşi mobilitate ca în bloc de amidon. În alte medii ca : hîrtie, agaroză, acetat de celuloză, migrarea lipoproteinelor în funcţie de încărcarea electrică netă este modificată de interacţiunea mecanică şi chimică dintre lipoproteine şi mediul de migrare. Interacţiunea mecanică este determinată de gradul de porozitate a mediului care poate împiedica migrarea în cazul cînd ordinul de mărime al porilor este mai mic decît cel al particulelor migratoare şi se concretizează în rămînerea particulelor mari de chilomicroni la start.

Interacţiunea chimică între lipoproteine şi mediul suport, mai accentuată cînd acesta este reprezentat de hîrtie, este demonstrată de lipsa delimitărilor nete ale diferitelor familii de lipoproteine şi de variaţia modelului electroforetic în diferite medii.

Cercetări recente sugerează că dintre factorii care influenţează mobilitatea electroforetică, structura componentelor proteice — apolipoproteine — ale complexelor lipoproteice este elementul cel mai important (224).

ELECTROFOREZA LIPOPROTEINELOR PE HÎRTIE (115)
LIPIDOGRAMA CLASICĂ (141)

Fracţionarea electroforetică se efectuează la temperatura camerei, în tampon veronal sodic cu *p*H-ul 8,6 şi forţa ionică 0,12 M, pe benzi de hîrtie Whatman ≠ 1, după o migrare de 4—7 ore la o tensiune constantă de 150—250 V, cu un curent de 3—4 mA pe bandă.

a) *Reactivi.* 1) Tampon veronal sodic 0,12 M, *p*H=8,6 la care se adaugă etilendiaminotetracetat disodic 0,001 M (EDTA 0,001 M) cu scopul de a minimaliza efectul contaminării cu ioni metalici din hîrtie sau reactivi.

Conţine : 20,6 g barbital de sodiu (greutate moleculară = 206,18),
3,68 g barbital acid (greutate moleculară = 184,2),
0,372 g etilendiaminotetraacetat disodic (greutate moleculară = 372,254),

care se dizolvă în apă distilată, aducîndu-se volumul la 1 000 ml.

2) Colorantul Sudan negru B 0,5% în soluţie alcoolică, sau Sudan III în alcool-acetonă.

b) *Pregătirea cuvelor de eletroforeză.* Electroforeza se face în cuve de electroforeză cu alimentare electrică la voltaj constant. Benzile de hîrtie de filtru Whatman sînt pregătite pentru electroforeză prin marcarea originii cu un creion negru, umezire cu tamponul indicat şi echilibrare 3—4 ore înainte de aplicarea probelor.

Scanned with OKEN Scanner

c) *Modul de lucru.* După echilibrare se pun aproximativ 20 µl plasmă totală în zona marcată, cu ajutorul unei micropipete. Electroforeza se efectuează la temperatura camerei, la voltaj constant. Separarea optimă a lipoproteinelor impune menţinerea aceluiaşi nivel de tampon în ambele părţi ale cuvei şi verificarea periodică a *p*H-ului tamponului deoarece îmbătrînirea tamponului este totdeauna asociată cu o scădere a *p*H-ului sub 8,2. Dacă este folosit zilnic, tamponul dă rezultate bune 1—2 luni şi chiar mai mult, cu condiţia ca polaritatea cuvei să fie modificată la fiecare migrare. Cuvele sînt menţinute la temperatura camerei tot timpul. Cînd se foloseşte tampon proaspăt preparat, uneori, benzile de lipoproteine nu se separă net, dificultate care poate fi corectată prin umezirea benzilor în tampon vechi înainte de punerea probelor de ser şi folosirea de tampon proaspăt preparat în cuvă.

La sfîrşitul intervalului de migrare se îndepărtează benzile din cuvă, se fixează timp de 30 de minute la 100°, apoi se colorează prin imersie într-o soluţie alcoolică saturată de Sudan negru B sau o soluţie de Sudan III în alcool-acetonă. Timpul de colorare variază în funcţie de natura colorantului şi vechimea acestuia. Excesul de colorant este îndepărtat prin spălare în 2—3 băi succesive de alcool 50%, apoi benzile se usucă la temperatura camerei. Intensitatea de colorare a diferitelor zone, direct proporţională cu concentraţia de lipide, se măsoară prin eluţia fişiilor corespunzătoare familiilor majore de lipoproteine într-un amestec de alcool etilic-acid acetic 20% (v/v) şi citire fotocolorimetrică. Intensitatea absolută de colorare a probelor este în funcţie de vîrsta colorantului şi gradul de saturare a acestuia, ceea ce impune necesitatea folosirii periodice a unor benzi de control.

În condiţii optime de efectuare a electroforezei, în tampon barbital, modelele lipoproteice arată o zonă lipoproteică slab definită alfa$_1$ (HDL) şi o separare cu mică putere de rezoluţie a lipoproteinelor cu densitate foarte joasă de cele cu densitate joasă ; în anumite situaţii se evidenţiază o trenă considerabilă a lipoproteinelor cu densitate foarte joasă, între regiunea beta-lipoproteinelor şi origine.

Aspectul tipic al lipidogramei pe hîrtie cu fracţiunile de alfa-lipoproteine, beta-lipoproteine şi trena spre origine se poate modifica prin înlocuirea tamponului barbital cu un tampon tris-EDTA care determină apariţia fracţiunii prebeta-lipoproteinelor.

Dar acest aspect tipic se poate modifica şi datorită unor condiţii deficitare de efectuare a lipidogramei. Astfel, proba de ser sau plasmă poate fi păstrată la 4°C mai multe zile înainte de electroforeză, dar niciodată nu va fi îngheţată, deoarece îngheţarea alterează ireversibil unele modele lipoproteice. După o singură îngheţare şi dezgheţare, plasma bogată în lipoproteine prebeta prezintă o bandă artificială largă în poziţia chilomicronilor. Dacă plasma, îndeosebi cea lipemică, este lăsată la temperatura camerei în repaus de cîteva ore, lipoproteinele denaturate se acumulează la origine şi se produce o creştere a mobilităţii benzilor de lipoproteine (67).

d) *Precauţii.* Pentru a anihila acţiunea unor factori, concretizată în alterarea modelelor lipoproteice, se iau următoarele măsuri :

— să se realizeze un contact cît mai bun între benzile de hîrtie de filtru şi cadrul de susţinere a acestora ;

— benzile să fie suficient de umede ;

— nivelul lichidului trebuie să fie acelaşi în ambele camere ale electrozilor cuvei şi să nu depăşească nivelul maxim şi minim de lichid stabilit pentru cuva respectivă ;

— electroforeza trebuie efectuată la temperatură relativ constantă, într-un spaţiu lipsit de curenţi de aer ;

— sărurile care se depun în urma migrării în vecinătatea electrodului pozitiv trebuie îndepărtate cu mare atenţie cu ajutorul unei spatule şi readuse în camera aceluiaşi electrod. Nu se permite acumularea sărurilor nici pe ecranul central care separă camerele electrozilor, deoarece puntea de săruri astfel formată induce pierderi în unitatea de energie circulantă ;

— amestecul colorant este folosibil aproximativ două luni, după care se prepară un nou amestec. Periodic se adaugă amestec de colorare proaspăt care menţine concentraţia băii de colorare. Timpul de colorare este în funcţie de vechimea tamponului, variind între 45 şi 60 de minute pentru tamponul proaspăt în prima săptămînă de folosire şi 60—90 minute în săptămînile următoare. Cu etalon al variaţiei intensităţii de colorare se foloseşte modelul electroforetic al serului normal efectuat la fiecare migrare.

LIPIDOGRAMA ÎN TAMPON ALBUMINOS (142, 224)

Lipidograma în tampon albuminos se deosebeşte de lipidograma clasică numai prin adăugarea la tampon a albuminei bovine sau umane, în concentraţie de 1%, care are drept rezultat separarea mai netă a familiilor de lipoproteine. În prezenţa serum-albuminei lipoproteinele apar mai bine definite, deoarece se evidenţiază limitele benzilor şi se elimină aspectul ondulatoriu sau difuz al conturului lor, se delimitează banda de alfa-lipoproteine, se separă parţial prebeta- lipoproteinele de beta-lipoproteine şi se limitează trena exclusiv la probele care conţin concentraţii mari de VLDL. Nu se cunoaşte mecanismul exact al acţiunii albuminei asupra separării familiilor de lipoproteine. Lees şi Hatch (142, 163) au emis ipoteza saturării porilor de adsorbţie ai hîrtiei cu albumină în exces, deci eliminarea adsorbţiei ar permite migrarea uniformă a lipoproteinelor. La aceasta se adaugă prevenirea oxidării lipoproteinelor de către ionul cupric, datorită capacităţii de legare a albuminei cu metalele. Acelaşi mecanism se poate presupune şi în cazul folosirii agarozei sau agarului ca mediu-suport.

LIPIDOGRAMA ÎN GELOZĂ (126)

Ca mediu suport se foloseşte gelul de agar obţinut prin dizolvarea acestuia la cald în soluţie apoasă şi adăugarea tamponului veronal cu

Scanned with OKEN Scanner

*p*H-ul 8,6 pînă la obţinerea concentraţiei dorite. Colorarea se face cu Sudan negru, înainte sau după migrare. În urma scindării electroforetice se evidenţiază următoarele fracţiuni :

— o fracţiune pre-albuminică ;
— o fracţiune lipo-albuminică ;
— o fracţiune alfa$_1$ corespunzătoare lipoproteinelor alfa de pe hîrtie ;
— o fracţiune alfa$_2$ corespunzătoare lipoproteinelor beta de pe hîrtie ;
— chilomicronii care rămîn în start.

LIPIDOGRAMA PE ACETAT DE CELULOZĂ (59, 228, 23, 60)

Acetatul de celuloză ca mediu de migrare a lipoproteinelor are unele avantaje : adsorbţie mai redusă, poroziţate mai mică, diminuarea curentului de electro-osmoză, reducerea timpului de migrare prin majorarea voltajului, separarea netă a fracţiunii prebeta de cea a beta-lipoproteinelor. Experienţe simple au demonstrat valoarea cert cantitativă a acestei metode. De exemplu, diluarea serului sau aplicarea lui în cantităţi descrescătoare par să confirme această presupunere prin diferenţa de intensitate a benzilor în funcţie de cantitatea de ser aplicată.

Fracţionarea electroforetică se realizează în tampon barital cu *p*H-ul 8,8, forţa ionică 0,05 M. După numai 60 minute de migrare la 350 volţi se face uscarea benzilor într-un exicator care conţine o sare de calciu, apoi se realizează oxidarea cu peroxid de bariu, sau într-un aparat producător de ozon în condiţii fizico-chimice relativ constante. Indiferent de tehnica de colorare, lipidograma pe acetat de celuloză evidenţiază 4 fracţiuni distincte :

— o bandă de beta-lipoproteine puternic colorată situată la nivelul beta-globulinelor ;
— o bandă mai îngustă şi mai slab colorată reprezentată de lipoproteinele prebeta şi care migrează la nivelul alfa$_2$-globulinelor ;
— o bandă la nivelul alfa$_1$-globulinelor ;
— o bandă corespunzătoare serum-albuminelor şi acizilor graşi legaţi la acestea.

După stabilirea proporţiilor acestor fracţiuni s-a calculat raportul beta/prebeta şi s-a constatat că variaţiile lui coincid cu cele ale raportului colesterol/trigliceride.

ELECTROFOREZA LIPOPROTEINELOR ÎN AMIDON

Mediul oferit de amidon prezintă următoarea particularitate : la simpla migrare electroforetică în funcţie de încărcarea electrică se adaugă un efect de filtrare care permite migrarea particulelor şi separarea lor în funcţie de talie şi masă. Colorarea se face cu o soluţie alcoolică de Sudan negru şi este urmată de o decolorare mai îndelungată.

Studiul fracţiunilor obţinute prin eluţie după electroforeză în bloc de amidon demonstrează prezenţa unei lipoproteine alfa$_2$, care migrează în faţa fracţiunii beta-lipoproteinelor, precipitabilă cu sulfat de dextran

în prezenţa clorurii de calciu. Puţin înapoia albuminelor se evidenţiază o bandă îngustă care corespunde fie lipoproteinelor alfa, fie unei lipoalbumine, iar în poziţia globulinelor $alfa_1$ se evidenţiază o altă bandă îngustă.

LIPIDOGRAMA ÎN GEL DE POLIACRILAMID (96, 22, 153, 176)

Gelul de poliacrilamid oferă două posibilităţi de tratare, şi anume : în „plăci" sau în „disc electroforetic", avînd marele avantaj al unei puteri foarte mari de rezoluţie datorată porozităţii care îi conferă proprietatea de filtrare faţă de moleculele care îl străbat. În funcţie de concentraţia gelului se poate varia dimensiunea porilor şi prin aceasta se poate influenţa migrarea familiilor de lipoproteine. Concentraţia gelului trebuie stabilită cu grijă deoarece gelul prea concentrat nu permite pătrunderea particulelor prea mari, dar în acelaşi timp nici nu se poate dilua nelimitat pentru că manipularea lui devine foarte delicată, iar moleculele mici migrînd foarte repede, trebuie scurtat timpul de migrare ceea ce împiedică migrarea particulelor mai mari.

Indiferent de modalitatea de aplicare a gelului de poliacrilamid, aceasta ridică unele probleme mai dificile legate de colorare, concentrarea gelului şi, mai ales, de identificarea benzilor obţinute. Deoarece se consideră că colorantul interferă cu migrarea lipoproteinelor, s-au studiat diferite modalităţi de colorare şi s-au propus mai multe soluţii, dintre care cea mai adecvată pare aceea a precolorării pe cale externă.

Lipidograma evidenţiază următoarele benzi :

— o bandă la nivelul albuminelor şi $alfa_1$-globulinelor ;

— o bandă la nivelul $alfa_2$-globulinelor şi beta-globulinelor ;

— o bandă de lipoproteine beta cu 3 subfracţiuni de mobilitate electroforetică diferită.

LIPIDOGRAMA ÎN AGAROZĂ (163, 74, 116, 292, 174, 156)

Reactivi. 1. Tampon barbital cu *p*H=8,6 şi forţă ionică 0,05, obţinut prin dizolvarea a 1,84 g acid dietilbarbituric şi 10,30 g dietilbarbiturat de sodiu în 1 000 ml apă distilată. Se păstrează la 4°C timp îndelungat. Molaritatea soluţiei tampon influenţează extinderea migrării şi gradul de separare a benzilor de lipoproteine. Experimentele cu tampon barbital 0,1 ; 0,075 şi 0,05 M au arătat că tamponul 0,05 M este cel mai bun deoarece asigură o separare mai netă, cu zone mai extinse şi mai clare între fracţiunile lipoproteice.

2. Soluţia de agaroză 0,8% (174) se pregăteşte astfel : se pun 0,8 g agaroză la înmuiat în 100 ml apă distilată timp de 24 de ore. La sfîrşitul acestui interval se îndepărtează apa prin decantare şi se transvazează cantitativ cu ajutorul unui amestec de 50 ml apă distilată şi 50 ml tampon barbital într-un Erlenmeyer cu capac de sticlă. Se introduce într-o baie de apă care fierbe pînă cînd soluţia devine clară. Se adaugă 0,1 g mertiolat drept conservant, apoi se repartizează agaroza în eprubete, filtrîndu-se aproximativ 12—15 ml agaroză în fiecare eprubetă şi se păstrează în stare gelificată la +4°C. În momentul folosirii agaroza se încălzeşte în baia de apă.

Deşi soluţiile de agaroză mai diluate au putere mai mare de rezoluţie, nu se recomandă folosirea lor deoarece la concentraţii mici nu formează un gel suficient de rigid pentru a preveni prăbuşirea şanţului spre interior şi apariţia de fisuri pe margini.

3. Acid acetic glacial 5%
4. Sudan negru B 0,5% în etanol 60%
5. Etanol 50%
6. Albastru de bromfenol. Se adaugă o mică cantitate de albastru de bromfenol la 2 ml ser de control, care marchează traseul servind la urmărirea migrării electroforetice.

Echipament. 1. Lame de sticlă pe care se toarnă mediul-suport; trebuie să fie perfect curate şi să nu conţină urme de grăsimi. Pentru aceasta se spală lamele cu detergent, apoi sub curent abundent de apă caldă (nu se permite răcirea apei înainte de îndepărtarea completă a detergentului) şi apoi cu apă distilată. După spălare, lamele se usucă şi se lustruiesc pentru ca agaroza să adere bine la toată suprafaţa. Înainte de folosire se introduc într-o baie de alcool şi se flambează pentru îndepărtarea completă a grăsimilor. Din acest moment, lamele pot fi manipulate numai prin atingerea marginilor lor. Lamele curate pot fi păstrate într-o baie de alcool 95% sau ca lame uscate într-un disc Petri uscat şi curat.

Dacă lamele au mai fost folosite în migrări electroforetice anterioare, se recomandă introducerea lor într-o baie de apă care fierbe pînă cînd agaroza se hidratează şi se topeşte înlăturîndu-se cu uşurinţă. Apoi se introduc într-o baie cu amestec oxidant, care permite contactul individual cu lamele pentru un interval de 4—24 ore, după care soluţia oxidantă se îndepărtează prin decantare, iar lamele se spală sub curent puternic de apă. Se controlează completa îndepărtare a acidului prin măsurarea *p*H-ului apei de spălare. Se spală lamele cu apă distilată şi se păstrează după cum s-a descris.

Noble (163) recomandă înlocuirea lamelor cu benzi de film fotografic din poliester subţire. Se pot folosi filme radiologice care s-au curăţat după hidratarea gelatinei timp de cîteva ore în apă rece.

Prin acest procedeu gelatina se îndepărtează uşor, iar filmele se păstrează la loc uscat pînă la folosire.

2. Cuva de electroforeză (fig. IV.2.)
3. Cuve de colorare a lamelor
4. Baie de fixare care conţine acid acetic glacial 5%
5. Integrator automat.

Mod de lucru. Se încălzeşte agaroza la 70—80°C. Se pipetează cîte 2,5 ml agaroză cu o pipetă spartă la vîrf, care este plimbată încet dinspre centru spre marginile lamei, astfel încît întreaga suprafaţă să fie uniform acoperită. Operaţiunea trebuie să se desfăşoare destul de repede încît toate lamele să fie acoperite cu agaroză în 10 minute, avînd grijă ca în acest interval să nu scadă temperatura agarozei sub 60°C. Trebuie atenţie ca lamele să fie aşezate perfect orizontal. După 30 de minute

de la turnarea agarozei pe prima lamă, soluţia de agaroză este suficient gelificată pentru săparea şanţurilor cu ajutorul unei ştanţe speciale. Trebuie evitată deformarea şanţurilor rezervor pentru probă.

Fiecare rezervor este umplut cu aproximativ 50 µl soluţie de agaroză, iar după 5 minute se aplică aproximativ 50 µl ser. Se evită revărsarea

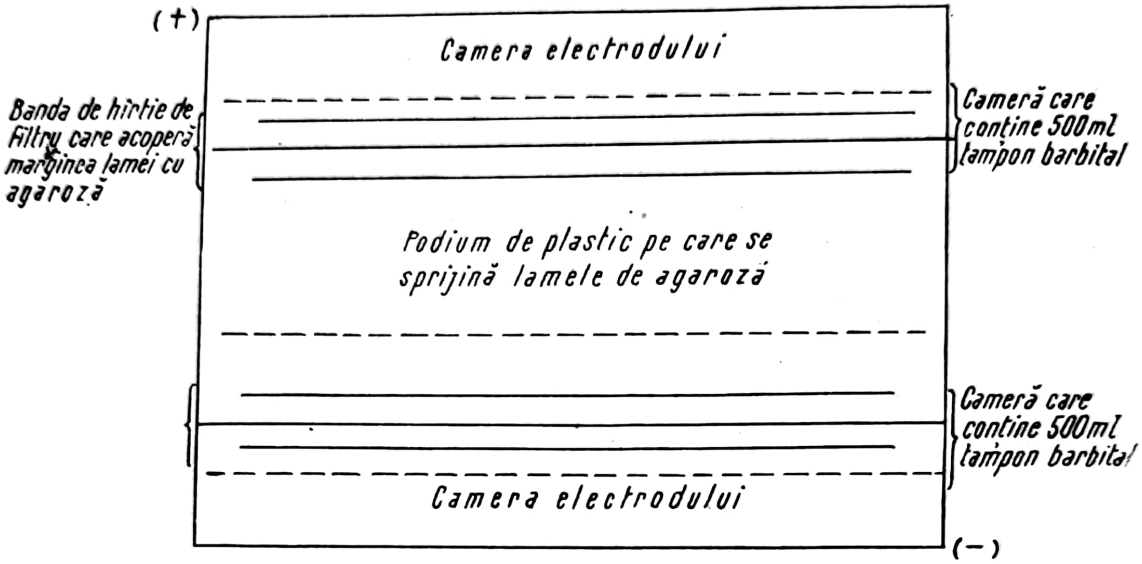


Fig. IV. 2. — Cuva pentru electroforeză în agaroză a lipoproteinelor plasmatice.

serului peste marginile rezervorului şi formarea de bule. Fiecare serie de migrare este însoţită de o probă de control care a fost precolorată cu albastru de bromfenol.

În fiecare cameră a electrodului se pun cîte 500 ml tampon barbital rece. Se introduc lamele în cuva de electroforeză cu originea lamelor orientată spre catod. Închiderea circuitului electric se face prin intermediul a două benzi de hîrtie de filtru umezite cu tampon barbital. Fiecare bandă este plasată în tampon, cîte una în fiecare cameră a electrodului, în partea cea mai centrală a camerei electrodului şi acoperind gelul pe o distanţă de 1 cm. Benzile de hîrtie trebuie să facă contact direct pe întreaga lungime a lamelor cu agaroză.

Se închide circuitul şi se aplică o tensiune de 350 V pînă cînd zona corespunzătoare lipoproteinelor alfa a migrat la o distanţă de aproximativ 3 cm de origine.

După întreruperea curentului, punţile de hîrtie de filtru sînt îndepărtate, iar lamele introduse în soluţia fixator de acid acetic glacial 5% timp de 30 de minute. Soluţia de fixare deshidratează parţial gelul şi îndepărtează sărurile tamponului. Apoi lamele se pun pe un suport, iar pe suprafaţa agarozei se întinde o hîrtie de filtru umezită cu apă, care să adere perfect la gel şi se face uscarea la temperatura camerei, timp de 24 de ore, sau uscarea forţată la 80—85°C timp de 20 de minute.

Scanned with OKEN Scanner

Lamele sînt colorate cu o soluţie de Sudan negru B 0,5% în etanol 60% timp de 20 de minute. După îndepărtarea colorantului se spală lamele în 3 băi succesive de etanol 50%, cîte 5 minute în fiecare baie şi se lasă să se usuce la temperatura camerei.

MOBILITATEA ELECTROFORETICĂ A LIPOPROTEINELOR ÎN DIFERITE MEDII

Lipidograma clasică în tampon veronal sodic are putere mică de rezoluţie, evidenţiind două fracţiuni majore :

— o bandă de alfa$_1$-lipoproteine slab definită, care migrează puţin în faţa alfa$_1$-globulinelor ;

— o bandă de beta-lipoproteine, cu intensitate maximă la nivelul beta-globulinelor, dar putînd ocupa poziţii diferite de la nivelul alfa$_2$-globulinelor pînă la cel al gama-globulinelor şi chiar la linia de origine ; în acest din urmă caz, se formează o trenă considerabilă de lipoproteine între regiunea beta şi origine.

După adăugarea albuminei în soluţia tampon, lipidograma capătă următorul aspect : banda alfa se intensifică, fracţiunea prebeta se separă parţial de beta şi apare evidentă la nivelul alfa$_2$-globulinelor, beta-lipoproteinele dau o bandă în poziţia obişnuită, iar trena spre origine, care acoperă toată zona dintre regiunea beta şi start, apare numai în cazul unor concentraţii mari de prebeta-lipoproteine.

După cum am văzut electroforeza în agar, agaroză, acetat de celuloză şi alte medii evidenţiază 4 fracţiuni majore :

a. *Fracţiunea alfa-lipoproteinelor* are, în general, mobilitate electroforetică intermediară între cea a albuminelor şi a alfa$_1$-globulinelor şi apare ca o singură bandă cu intensitate uniformă. Cînd această fracţiune este abundentă, se produce o separare parţială în două zone :

— o zonă majoră catodică ;

— o zonă minoră, care migrează spre anod şi acoperă, parţial sau total, banda de albumină, formînd uneori chiar o zonă în faţa albuminelor. Unii autori au presupus că apariţia acestei zone ar fi determinată de colorarea complexelor formate de acizii graşi liberi cu albuminele şi nu de o porţiune a lipoproteinelor cu densitate mare. Se pare că intensitatea de colorare şi gradul de separare a acestei zone se accentuează pe măsura păstrării serului la 4°C.

b. *Fracţiunea lipoproteinelor prebeta* migrează, în general, la nivelul alfa$_2$-globulinelor. În cazul electroforezei în acetat de celuloză şi diferite geluri s-a raportat o proporţie relativ mică de dedublare electroforetică a fracţiunii prebeta, corespunzînd unei subfracţionări demonstrate de ultracentrifugare (225). O subfracţiune migrează în poziţia alfa$_2$ obişnuită, iar cealaltă într-o poziţie mai avansată. După unii autori, scindarea prebeta-lipoproteinelor ar fi legată de folosirea îndelungată a anticoncepţionalelor orale sau de terapia cu clofibrat.

Lipidograma pe hîrtie în tampon veronal albuminos nu evidenţiază fracţiunea prebeta decît în cazul unor tulburări hiperlipemice particulare, în timp ce serul „à jeun" al subiectului normal nu formează prebeta.

În agaroză, banda prebeta-lipoproteinelor este vizibilă clar, chiar în cazul unor valori scăzute ale trigliceridelor serice şi migrează foarte variabil înaintea fracţiunii beta, în funcţie de o serie de factori, dintre care cei mai importanţi sînt : structura componentelor proteice ale prebeta-lipoproteinelor, conţinutul în acizi graşi liberi ai plasmei şi, mai ales, variaţiile lipoproteinelor cu densitate mare. Serurile care evidenţiază o bandă prebeta de tip migrator rapid arată adesea o descreştere semnificativă a clasei lipoproteinelor cu densitate mare, cantităţile de VLDL şi HDL fiind invers proporţionale. Existenţa în ser a benzii prebeta de tip migrator lent nu poate fi atribuită distribuţiei anormale de fosfolipide, deoarece fosfolipidele serice totale au concentraţie normală, în schimb raportul cefalină/lecitină, care se schimbă prin creşterea fracţiunii de cefalină şi descreşterea corespunzătoare a fracţiunii de lecitină, pare să aibă implicaţii în mobilitatea fracţiunii prebeta.

Lipidograma pe acetat de celuloză evidenţiază o bandă prebeta mai îngustă şi mai slab colorată la nivelul alfa$_2$-globulinelor, aspect obţinut şi în gel de amidon.

Gelul electroforetic de poliacrilamid dă o electroforeză cu înfăţişare tipică, deosebită de cele menţionate prin aceea că banda difuză de prebeta lipoproteine migrează în urma benzii beta şi nu înaintea ei.

c. În toate mediile suport, *fracţiunea beta-lipoproteinelor* migrează în poziţia beta-globulinelor dînd o bandă puternic colorată.

d. *Chilomicronii,* avînd componenta proteică slab reprezentată în molecula lor, nu migrează, din care cauză ei se găsesc în apropierea punctului de aplicare sau chiar în start pe suportul de migrare. Pe hîrtie, chilomicronii formează o bandă simetrică în jurul liniei de origine. Unii autori au raportat că în acetat de celuloză o parte a chilomicronilor ar avea o oarecare mobilitate, migrînd spre regiunea alfa$_2$ şi împiedicînd distingerea fracţiunii VLDL de cea a chilomicronilor.

Separarea optimă o fracţiunilor lipoproteice se produce cînd distanţa de migrare de la punctul de aplicare pînă în centrul benzii alfa se menţine între anumite limite. Migrarea prea îndepărtată dă, de obicei, benzi curbate şi cu limite mai puţin distincte.

Denumirea fracţiunilor lipoproteice separate prin electroforeză se face în funcţie de mobilitatea electroforetică a proteinelor, de unde şi numele de lipoproteine alfa şi beta. Gennes şi Polonovski (296), abandonînd nomenclatura al cărui sistem de referinţă îl constituie poziţia globulinelor şi în care ordinea alfa$_1$-alfa$_2$-beta nu corespunde datelor furnizate de ultracentrifugare, propun să se dea denumirii diferitelor lipoproteine numai o semnificaţie alfabetică, alfa desemnînd lipoproteinele cu mobilitatea cea mai mare, iar beta indicîndu-le pe cele mai lente. S-a stabilit o corespondenţă aproximativă a fracţiunilor separate în urma electroforezei în diferite medii fără să se ia în consideraţie mobilitatea reală a lipoproteinelor, ilustrată în tabelul IV.34.

Diferiţi autori au studiat comparativ modelele electroforetice obţinute pe diferite medii-suport, folosind ca metodă de referinţă electroforeza pe hîrtie în tampon barbital care conţine albumină. Au fost studiate în

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul IV.4

Tabloul diferitelor denumiri ale fracţiunilor lipoproteice, în funcţie de tehnică

Electroforeza liberă		alfa			beta			
Electroforeza pe hîrtie	Lipoalbumine	alfa			beta		Depozit (chilomicroni)	
Electroforeza pe hîrtie în tampon albuminos — Lees şi Hatch (142)	Lipoalbumine	alfa	$alfa_2$ = pre-beta		beta		Depozit (chilomicroni)	
Raynaud şi colab. (296)	A +	alfa	beta foarte rapide	beta rapide	beta lente	beta foarte lente		
Coloană de amidon — Kunkel		$alfa_1$	$alfa_2$		beta			
Acetat de celuloză	Lipoalbumine	$alfa_1$	$alfa_2$		beta			
Geloză-Uriel şi Grabar (233)	q_2 = Lipoalbumine alfa $alfa_2$	$alfa_1$	$alfa_2$ beta				Depozit (chilomicroni)	
Gel de amidon	Lipoalbumine	alfa			beta			
Gel de acrilamid Pratt şi Dangerfield (171)	Lipoalbumine	SMDL	LMDL		VLDL		Depozit (chilomicroni)	
Alte tehnici	Fără nomenclatură precisă, dar cu referire la ultracentrifugare.							

Scanned with OKEN Scanner

paralel lipidogramele în agaroză şi acetat de celuloză care au devenit, în ultima vreme, medii-suport frecvent folosite pentru fracţiunile lipoproteice. Electroforeza în agaroză furnizează o bună separare a celor 4 familii de lipoproteine majore, dînd uneori mai mult de o bandă pentru fiecare familie de lipoproteine. Preparatele de acetat de celuloză dau o separare mai slabă a chilomicronilor şi fracţiunii VLDL.

Gelul de poliacrilamid (PGE) adaptat mai recent la electroforeza lipoproteinelor plasmatice (96) funcţionează ca un filtru şi oferă unele avantaje pentru distingerea heterogenităţii modelelor lipoproteice caracteristice în diferite tipuri de hiperlipoproteinemie, separînd lipoproteinele pe baza mărimii lor şi dînd o configuraţie în funcţie de încărcarea electrică. O menţiune specială trebuie făcută pentru combinarea modelelor lipoproteinelor plasmatice obţinute prin diferite metode electroforetice, în definirea tipului III de hiperlipoproteinemie (93, 153). Modelele lipoproteinelor obţinute prin electroforeza în poliacrilamid (96) au fost comparate cu cele obţinute pe alte medii, acordîndu-se atenţie deosebită întrebării dacă este posibil un diagnostic al hiperlipoproteinelor tip III numai pe baza electroforezei, deoarece în multe laboratoare nu este accesibilă ultracentrifugarea. Studiile au arătat că tipul III poate fi definit prin prezenţa lipoproteinelor cu mobilitate beta pe hîrtie, agaroză sau medii similare, dar cu densitate mai mică decît a beta lipoproteinelor convenţionale (LDL). Pacienţii cu acest model au două populaţii majore de particule VLDL plasmatice care pot fi mai uşor separate prin electroforeză în bloc de amidon. Pe acest mediu fracţiunea VLDL alfa$_2$-migratoare are compoziţie obişnuită întîlnită la subiecţii normali şi în alte tipuri de hiperlipoproteinemie. Componenta VLDL beta-migratoare are un conţinut neobişnuit de mare de colesterol faţă de trigliceride.

Pe hîrtie se diferenţiază uneori o bandă prebeta, iar pe PGE lipoproteinele migrează împreună, de obicei în poziţiile VLDL şi HDL. Astfel, 96% din cazuri s-au caracterizat prin combinarea prezenţei lipoproteinelor beta migratoare pe hîrtie în absenţa benzii care migrează ca LDL pe poliacrilamid (22).

Deoarece testul fals pozitiv a fost restrîns exclusiv la plasma pacienţilor cu concentraţii foarte mari de trigliceride (tip I sau V), iar testul fals negativ a fost dat de serul pacienţilor tip III bine trataţi, s-a tras concluzia că electroforeza singură oferă o indicaţie de precizie rezonabilă a diagnosticului tip III.

ELECTROFOREZA CALITATIVĂ A LIPOPROTEINELOR

Deşi electroforeza a furnizat multă vreme numai o evaluare simplă, directă, a principalelor familii de lipoproteine serice, interpretarea calitativă a modelelor lipoproteice s-a dovedit foarte utilă în medicina clinică. În tabelele V 11, V 12 şi fig. V 2 reproducem schematic aspectele lipidogramelor în diferite circumstanţe. Figura IV.3. reproduce aspectele lamelor.

Scanned with OKEN Scanner

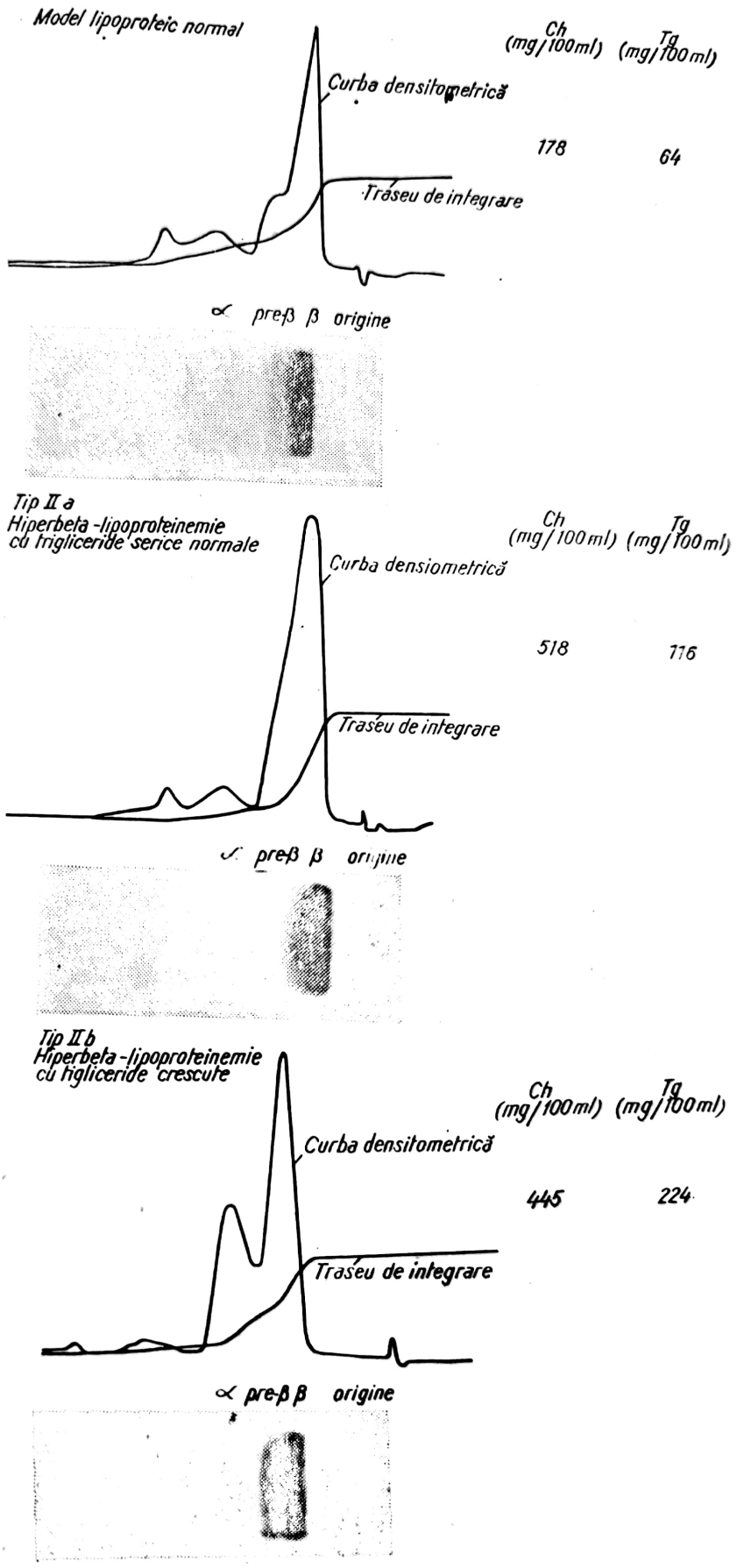


Fig. IV. 3. (1, 2, 3) — Modele lipoproteice în gel de agaroză. Numerele romane se referă la tipurile de hiperlipoproteinemie stabilite în acord cu clasificarea lui Fredrickson și colab. (93).

Fig. IV — 3 (1)

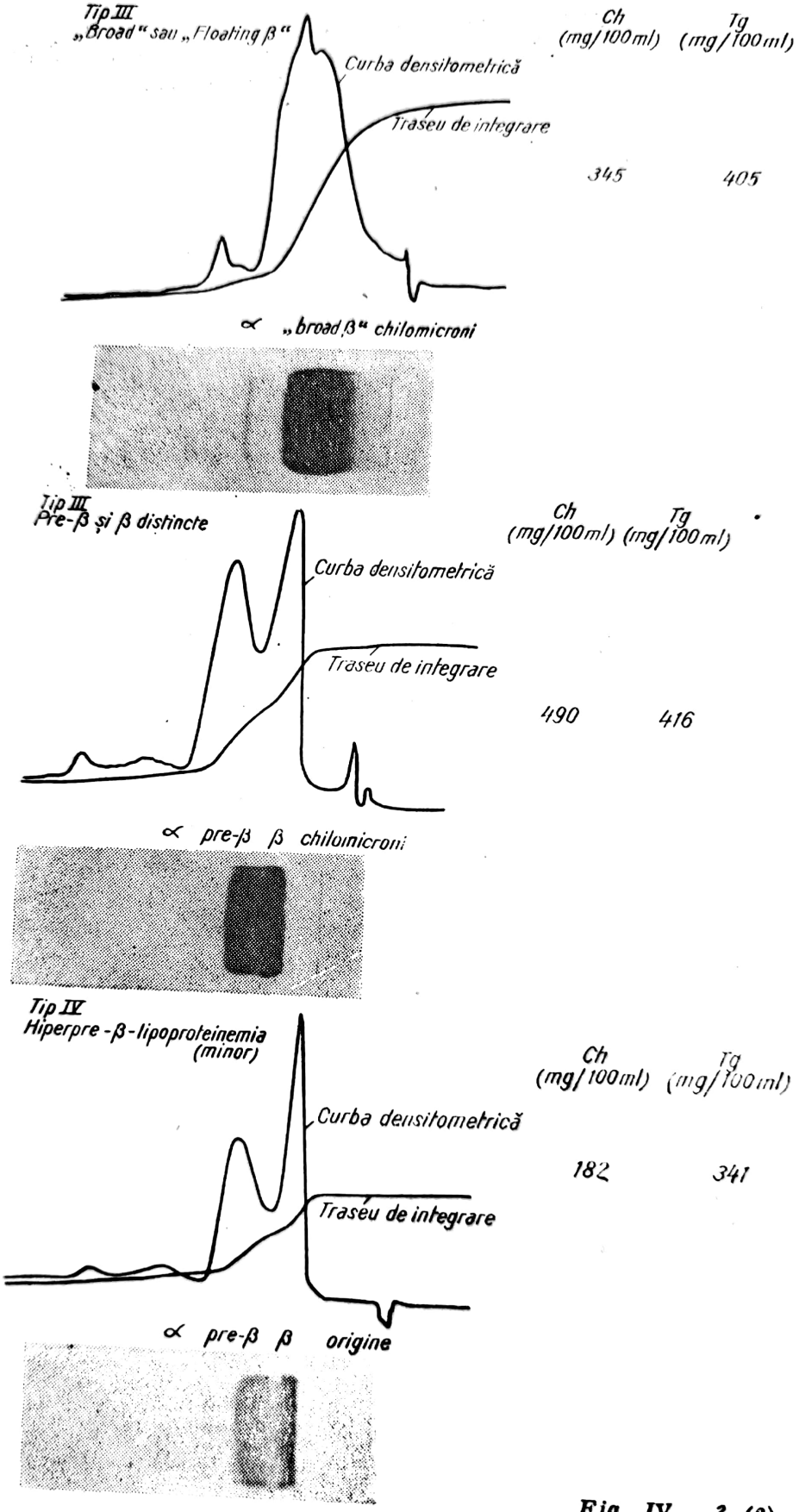


Fig. IV — 3 (2)

Scanned with OKEN Scanner

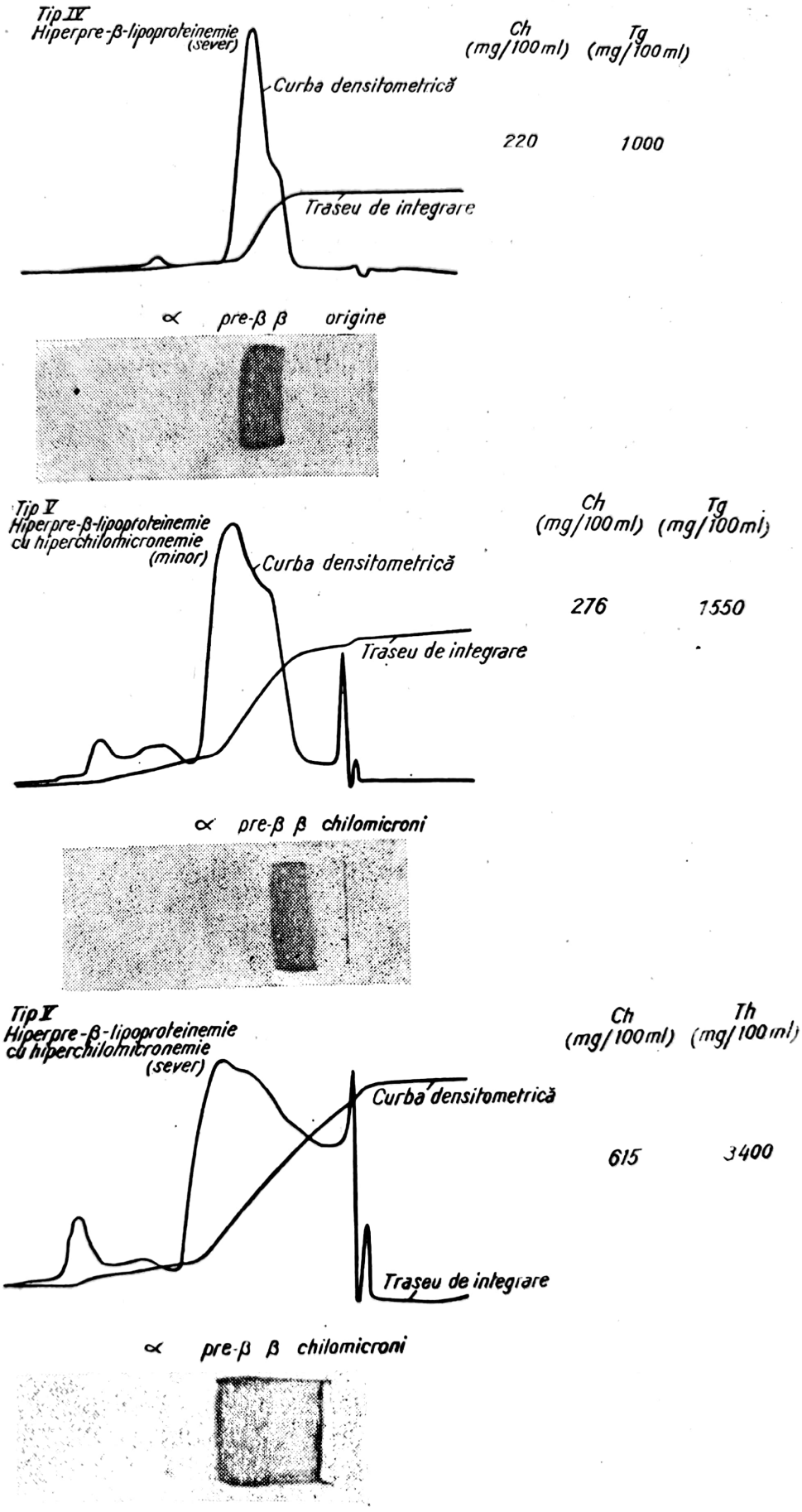

Tip IV
Hiperpre-β-lipoproteinemie (sever)
Ch (mg/100ml)
Tg (mg/100ml)
Curba densitometrică
220
1000
Traseu de integrare
∝ pre-β β origine
Tip V
Hiperpre-β-lipoproteinemie cu hiperchilomicronemie (minor)
Ch (mg/100ml)
Tg (mg/100ml)
Curba densitometrică
276
1550
Traseu de integrare
∝ pre-β β chilomicroni
Tip V
Hiperpre-β-lipoproteinemie cu hiperchilomicronemie (sever)
Ch (mg/100ml)
Th (mg/100ml)
Curba densitometrică
615
3400
Traseu de integrare
∝ pre-β β chilomicroni

Fig. IV — 3 (3)

ASPECT ELECTROFORETIC PARTICULAR AL MODELELOR LIPOPROTEICE

În afara modelelor electroforetice lipoproteice normale, studiul fracţionării electroforetice a evidenţiat şi modele lipoproteice cu aspect particular :

a. „Broad-beta-lipoproteine" = „beta-VLDL" = „floating beta-lipoproteine" (67, 22) au fost identificate ca lipoproteine cu mobilitate electroforetică beta care flotează la densitatea 1,006, după 16 ore la 100 000 g, sau ca lipoproteine ale căror concentraţii de LDL şi VLDL sînt inversate (22). La electroforeza în bloc de amidon VLDL devin clar bimodale, o fracţiune migrînd în poziţia alfa$_2$ obişnuită din care cauză a fost numită „alfa$_2$-VLDL", iar cealaltă într-o poziţie beta anormală care i-a dat numele de „beta-VLDL". Electroforeza pe hîrtie a fracţiunii de ultracentrifugare evidenţiază „broad beta" numai la pacienţii homozigoţi pentru deficienţa familială în HDL (boala Tangier) şi la pacienţii cu hiperlipoproteinemie de tip III.

b. În 30—39% din plasmele subiecţilor normali şi ocazional în toate tipurile de hiperlipoproteinemie apare la electroforegramă o zonă distinctă formată din lipoproteine de mobilitate prebeta, fără ca trigliceridele să fie crescute în mod deosebit, datorită unei lipoproteine grele prebeta = „prebeta lourde" (67), care mai degrabă sedimentează decît flotează la densitatea 1,006. Această fracţiune descrisă de Rider, Levy şi Fredrickson (177) ca „sinking prebeta" (67, 198), S.P.B. (177) corelată cu fracţiunea lipoproteică cu densitate 1,050—1,080 şi care pare să corespundă antigenului Lp descris de Berg (25, 67), este un indicator al polimorfismului genetic al lipoproteinelor ce nu pare să aibă implicaţii patologice, găsindu-se deopotrivă la 10% subiecţi dislipemici şi rudele lor normale. Demonstrarea antigenului Lp se face examinînd fracţiunile alfa + beta cu ajutorul electroforezei, care permite decelarea unei benzi prebeta absentă în mod normal în această fracţiune şi a cărei importanţă biologică nu se cunoaşte încă.

c. Antigenul Lp (177) diferă de „retro-alfa-lipoproteine" (67) care migrează imediat în urma benzii alfa, deci are cam aceeaşi mobilitate electroforetică dar, care, spre deosebire de SPB nu este precipitat cu sulfat de dextran. Retroalfa apare ca o bandă îngustă, slab colorată, localizată între zona beta şi alfa, de obicei mărginită de alfa-lipoproteine. Această bandă cu aspect particular este rară la subiecţii normali, dar se întîlneşte frecvent în plasma subiecţilor, obezi hipergliceridemici asociată cu diabetul sau afecţiunile hepatice. Lipoproteina retroalfa are densitate cuprinsă între 1,063 şi 1,21 g/ml şi reacţionează cu antiserul alfa-lipoproteinelor în imunelectroforeză.

d. „Lipoproteina X" (Lp x) (22) este denumirea dată unor asocieri particulare de fosfolipide, colesterol şi apoproteină-VLDL întîlnite în afecţiunile hepatice obstructive (194, 195). Se pare că este vorba de lipoproteine cu densitate joasă, cu compoziţie şi proprietăţi anormale. Poate fi separată prin metoda de precipitare Cohn şi este identificabilă printr-un anticorp care reacţionează şi cu apo-VLDL. Are mobilitate electroforetică

mai mică decît fracțiunea beta în agaroză sau pe hîrtie, dar o migrare specifică, în direcția catodică în gel de agar. Datorită prezenței colesterolului liber și fosfolipidelor se colorează slab cu coloranții specifici lipidelor. Lipoproteina X este însoțită frecvent de o diminuare sau chiar dispariție a lipoproteinei alfa.

e. Alfa-lipoproteine anormale în colostază, cu mobilitate electroforetică variabilă din poziția alfa$_1$-globulinelor pînă în poziția beta-globulinelor (19). Studiul asupra lipoproteinelor lejere filtrate pe gel de Sephadex a demonstrat eterogenitatea lor și în ceea ce privește greutatea moleculară, unele avînd valori apropiate de ale fracțiunii HDL datorate unei cantități anormal de mare de fosfolipide, în proporție asemănătoare celei găsite în mod normal în HDL. Aceste alfa-lipoproteine anormale sînt precipitate împreună cu lipoproteinele beta de către heparină în prezența ionilor de calciu. Precipitatul examinat prin imunoelectroforeză în prezența antiserului antilipoproteinelor colostazei obținut la iepure prezintă un arc de lipoproteine normale, un arc de lipoproteine cu mobilitate beta, dar cu poziție antigenică alfa, situat aproape de start și unul sau mai frecvent două arcuri de lipoproteine particulare în apropierea startului care nu reacționează nici cu serurile imune antibeta, nici cu serurile imune altialfa. Același precipitat în prezența antiserului uman normal formează două arcuri de precipitare care corespund alfa- și beta-lipoproteinelor.

f. VLDL anormal în maladia Tangier (22), care se mai poate detecta pe baza unei apoproteine VLDL cu mobilitate beta în boli severe ale parenchimului hepatic.

EVALUAREA LIPOPROTEINELOR OBȚINUTE PRIN ELECTROFOREZĂ

Modelele lipoproteinelor plasmatice obținute prin metode electroforetice sînt de un real folos în clasificarea diferitelor tipuri de hiperlipoproteinemii, motiv pentru care apare necesară evaluarea lor cantitativă.

Citirea modelelor lipoproteice se realizează cu ajutorul unui densitometru cu integrare automată. Modelele înregistrate sînt divizate în zone corespunzătoare celor 4 familii majore de lipoproteine : alfa, prebeta, beta și chilomicroni, în acord cu criteriile descrise de Hulley (J. Lipid Res. 12 : 420—433, 1971 — S. B. Hulley, S. G. Cook., W. S. Wilson). Unitățile de înregistrare ale ariei de integrare care corespund diferitelor fracțiuni lipoproteice sînt trasate manual. Limita alfa lipoproteinelor este ușor de definit. De remarcat faptul că cea mai importantă și, în același timp, cea mai dificilă demarcație este cea între fracțiunile prebeta și beta. Cele mai bune rezultate au fost obținute prin separarea lor în punctul de mijloc dintre cele două linii perpendiculare pe linia de bază, situate la nivelul primei și al celei de-a doua deviații perceptibile față de linia dreaptă care descrie panta descendentă a vîrfului fracțiunii beta. Această demarcație nu este posibilă în cazul în care componenta prebeta este mai mare decît beta. În această situație particulară, limita principală a componentei prebeta este marcată în punctul de întoarcere

a curbei trenei la linia de bază. Delimitarea chilomicronilor, cînd aceştia există, nu ridică probleme deosebite, deoarece se găsesc la start sau în apropierea acestuia. Limitele între fracţiuni sînt notate pe linia de bază, iar proiecţiile lor verticale sînt marcate pe linia de integrare. Concentraţia diferitelor clase de lipoproteine se exprimă procentual.

Deşi o estimare aproximativă a nivelului beta şi prebeta lipoproteinelor poate fi dedusă din determinările chimice ale colesterolului şi trigliceridelor, o interpretare strictă pe această linie poate duce la erori, în cazul unor anomalii clinice. În timp ce corelaţia între concentraţia colesterolului şi nivelul fracţiunii beta este semnificativă în toate grupele şi pare să reflecte o legătură structurală între aceste elemente, trigliceridele nu arată acelaşi grad de corelare. S-au menţionat cazuri în care prebeta depăşeşte limitele superioare ale normalului în prezenţa unor concentraţii normale ale trigliceridelor (77), deci fără semnificaţie patologică. Nici concentraţia alfa-lipoproteinelor nu poate fi estimată direct din concentraţia plasmatică a colesterolului şi trigliceridelor. Din aceste motive s-a considerat că metodele electroforetice au doar o valoare semicantitativă, deoarece simpla evaluare a concentraţiilor diferitelor familii de lipoproteine separate prin electroforeză nu dă indicaţii riguroase.

În ultimul timp, evaluarea cantitativă a lipoproteinelor plasmatice a devenit tot mai importantă în investigarea tulburărilor metabolismului lipidic, îndeosebi în studiile epidemiologice asupra afecţiunilor aterosclerotice şi în urmărirea în timp a efectului dietei restrictive, precum şi al tratamentului hipolipemiant.

Folosirea electroforezei pe hîrtie, care s-a bucurat de succes la început datorită lucrărilor lui Fredrickson şi Lees (Fredrickson D.S. şi Lees R.S., *Circulation*, 1965, 35, 321), a fost limitată datorită unui mare dezavantaj, şi anume : lipsa unei bune separări între lipoproteinele beta şi prebeta, care determină dificultăţi în interpretarea exactă şi evaluarea cantitativă a rezultatelor.

Studiile efectuate au demonstrat că electroforeza în gel de agaroză este o metodă cantitativă corespunzătoare scopurilor clinice, avînd în vedere proporţionalitatea între cantitatea de lipoproteine plasmatice şi intensitatea de culoare demonstrată pentru toate fracţiunile lipoproteice, care indică o legătură între intensitatea de culoare şi concentraţia totală de lipide plasmatice.

Electroforegrama în agaroză evidenţiază de obicei 5 fracţiuni :

— două fracţiuni cu mobilitatea cea mai mare, cunoscute în literatură ca lipoproteine alfa şi pentru care Dyeberg şi Hjørne (74, 75, 76, 77) propun o distincţie în „pre-alfa“ şi „alfa“ pentru „complexul alfa-proteinelor“, prin analogie cu „complexul de lipoproteine beta“ divizat în beta şi prebetalipoproteine ;

— o fracţiune prebeta în cantităţi detectabile la aproape toţi subiecţii, inclusiv la cei tineri ;

— fracţiunea beta, bine separată de prebeta ;

— adesea, o trenă de chilomicroni în cantităţi detectabile, totuşi foarte mici, la un număr mare de subiecţi după o noapte de post.

Prezentăm mai jos valoarea medie relativă, exprimată în procente, a fracţiunilor lipoproteice la subiectul normal :

Tabelul IV.5

Fracţiunea lipoproteică (valoarea medie relativă) la subiecţii normali

Fracţiunea lipoproteică	%
Alfa-lipoproteine	22—38
Prebeta-lipoproteine	7—25
Beta-lipoproteine	45—63
Chilomicroni	0—04

Evaluarea cantitativă a conţinutului în lipoproteine s-a făcut prin exprimarea intensităţii de culoare a fiecărei fracţiuni individuale ca procent din intensitatea totală de culoare, raportată la concentraţia de lipide totale plasmatice (74).

Precizia metodei care exprimă rezultatele cantitative ca lipide lipoproteice a fost găsită satisfăcătoare, cu o deviaţie standard de 10—25 mg/100 ml pe cele 5 fracţiuni lipoproteice. Deoarece intensitatea de culoare a benzilor diferitelor familii de lipoproteine raportată la unitatea de greutate diferă mult, a devenit necesară determinarea factorului de culoare care normalizează valorile componentelor alfa şi prebeta pentru cantităţi echivalente de beta-lipoproteine, prin două metode de standardizare :

— variaţiile zilnice în intensitatea de culoare au fost normalizate faţă de valorile pentru fracţiunea beta a serului normal îngheţat, care este inclus ca martor în fiecare migrare electroforetică ;

— variaţiile în cantitatea fiecărei probe de plasmă aplicate pe gel, ca şi cele în intensitatea de culoare a probei au fost normalizate prin procedeul de calcul, utilizînd concomitent măsurarea concentraţiei lipidelor totale, colesterolului, trigliceridelor şi fosfolipidelor.

Factorii de corecţie pentru valorile extincţiei diferitelor benzi de lipoproteine, obţinute după separare electroforetică, colorare şi eluare, au fost calculaţi pe baza compoziţiei medii a lipidelor diferitelor lipoproteine şi a intensităţii de culoare relativă pe unitatea de greutate pentru lipidele care iau parte la complexele lipoproteice. Folosind corecţia valorilor de extincţie, concentraţia lipidelor totale plasmatice şi raportul proteine/lipide al lipoproteinelor se obţin rezultate mai corecte în analizele de lipoproteine prin metoda electroforetică.

Compoziţia relativă a lipidelor fracţiunilor lipoproteice date se exprimă prin simbolurile u, v, x, y şi z în care : u indică conţinutul relativ în trigliceride ; v, colesterol ; x, esteri de colesterol ; y, fosfolipide; z, acizi graşi. Aceste simboluri sînt reunite în ecuaţia: $u+v+x+y+z=100$.

Scanned with OKEN Scanner

Intensitatea de culoare relativă a lipidelor este exprimată prin simbolurile a, b, c, d şi e, în care a se referă la trigliceride, b la colesterol, c la esteri de colesterol, d la fosfolipide şi e la acizii graşi. Valorile acestor simboluri vor fi exprimate în funcţie de lipidele cu cea mai mare intensitate de culoare pe unitatea de greutate.

„E" reprezintă valoarea extincţiei obţinută prin evaluarea unei fracţiuni lipoproteice sau a sumei fracţiunilor lipoproteice colorate cu Sudan black. Dacă toate lipidele s-ar colora cu acelaşi grad de intensitate în funcţie de greutatea lor, se poate defini simbolul E' care este un parametru ideal.

Cu ajutorul simbolurilor menţionate pot fi elaborate calculele pentru diferite fracţiuni lipoproteice. Pentru alfa-lipoproteine aceste ecuaţii vor fi :

$$E_{\text{alfa}} = E_{TG\ \text{alfa}} + E_{C\ \text{alfa}} + E_{CE\ \text{alfa}} + E_{PL\ \text{alfa}} + E_{FA\ \text{alfa}}$$

$$E'_{\text{alfa}} = E'_{TG\ \text{alfa}} + E'_{C\ \text{alfa}} + E'_{CE\ \text{alfa}} + E'_{PL\ \text{alfa}} + E'_{FA\ \text{alfa}}$$

$$E'_{TG\ \text{alfa}} = E'_{\text{afla. u alfa}}$$

$$E'_{C\ \text{alfa}} = E'_{\text{alfa. v alfa}}$$

$$E'_{CE\ \text{alfa}} = E'_{\text{alfa. x alfa}}$$

$$E'_{PL\ \text{alfa}} = E'_{\text{alfa. y alfa}}$$

$$E'_{FA\ \text{alfa}} = E'_{\text{alfa. z alfa}}$$

Relaţia între E şi E' este dată de ecuaţiile :

$$E_{TG\ \text{alfa}} = E'_{TG\ \text{alfa. a}}$$

$$E_{C\ \text{alfa}} = E'_{C\ \text{alfa. b}}$$

$$E_{CE\ \text{alfa}} = E'_{CE\ \text{alfa. c}}$$

$$E_{PL\ \text{alfa}} = E'_{PL\ \text{alfa. d}}$$

$$E_{FA\ \text{alfa}} = E'_{FA\ \text{alfa. e}}$$

Pe baza acestor două grupe de ecuaţii se obţin în continuare ecuaţiile :

$$E_{TG\ \text{alfa}} = E'_{\text{alfa. u alfa. a}}$$

$$E_{C\ \text{alfa}} = E'_{\text{alfa. v alfa. b}}$$

$$E_{CE\ \text{alfa}} = E'_{\text{alfa. x alfa. c}}$$

$$E_{PL\ \text{alfa}} = E'_{\text{alfa. y alfa. d}}$$

$$E_{FA\ \text{alfa}} = E'_{\text{alfa. z alfa. e}}$$

În continuare derivă :

$$E_{\text{alfa}} = E'_{\text{alfa}}\ (u\ \text{alfa} \cdot a + v\ \text{alfa} \cdot b + x\ \text{alfa} \cdot c + y_\alpha \cdot d + z_\alpha \cdot e)$$

$$\text{sau } E'\ \text{alfa} = E\ \text{alfa} \frac{1}{u_\alpha \cdot y + v_\alpha \cdot b + x_\alpha \cdot c + y_\alpha \cdot d + z_\alpha \cdot e}$$

$$\text{sau } E'\ \text{alfa} = E\ \text{alfa} \cdot F\ \text{alfa}$$

$$\text{în care : } F_{\text{alfa}} = \frac{1}{u_\alpha \cdot a + v_\alpha \cdot b + x_\alpha \cdot c + y_\alpha \cdot d + z_\alpha \cdot e}$$

În acelaşi mod se obţin ecuaţiile :

$$E'_{\text{beta}} - E_{\text{beta}} \cdot F_{\text{beta}}$$

$$\text{unde : } F_{\text{beta}} = \frac{1}{u_\beta \cdot a + v_\beta \cdot b + x_\beta \cdot c + y_\beta \cdot d + z_\beta \cdot e}$$

$$E'_p - E_p \cdot F_p$$

$$\text{unde : } F_p = \frac{1}{u_p \cdot a + v_p \cdot b + x_p \cdot c + y_p \cdot d + z_p \cdot e}$$

Scanned with OKEN Scanner

$$E'_{ch} - E_{ch} \cdot F_{ch}$$

$$\text{unde : } F_{ch} = \frac{1}{u_{ch} \cdot a + v_{ch} \cdot b + x_{ch} \cdot c + y_{ch} \cdot d + z_{ch} \cdot e}$$

Folosind un amestec de lipide s-au calculat factorii de corecţie (Dyeberg J. şi Hjorne N., *Clin chim. Acta*, 30, 407—413, 1970) şi s-au găsit următoarele valori :

$F_{alfa} = 2{,}12$
$F_{beta} = 1{,}60$
$F_{p} = 1{,}60$
$F_{ch} = 1{,}35$

Calculul concentraţiei de lipide lipoproteice în diferite fracţiuni se face după formula :

pentru concentraţia lipidelor lipoproteice alfa = concentraţia de lipide totale

$$\cdot \frac{E' \text{ alfa}}{E' \text{ ch} + E' \text{ beta} + E'_p + E'\text{alfa}}$$

Concentraţia lipoproteinelor se poate calcula prin multiplicarea valorii lipidelor lipoproteice cu :

$$\frac{1}{\text{raportul 1 — aproproteină/lipoproteină}}$$

Pe baza factorilor de corecţie aplicaţi la rezultatele electroforezei cantitative a lipoproteinelor se pot obţine valorile lipoproteinelor. Datorită capacităţii mari de separare a fracţiunilor, reproductibilităţii şi concordanţei cu rezultatele furnizate de ultracentrifugarea analitică estimarea lipoproteinelor prin electroforeză în gel de agaroză este considerată o metodă cantitativă corespunzătoare scopurilor clinice.

Pentru transformarea caracterului semicantitativ al electroforezei într-un caracter cantitativ, s-a propus şi tipizarea modelelor lipoproteice (116). Există cel puţin 4 scopuri pentru care electroforeza cantitativă este folositoare cînd aceasta devine posibilă :

— furnizează date numerice asupra fiecărei clase de lipoproteine care pot fi comparate cu nivelul normal şi limitele de diagnostic în acelaşi mod în care le-ar fi dat dozarea lipidelor serice şi ultracentrifugarea ;

— furnizează date asupra lipoproteinelor unui mare număr de subiecţi în studiile epidemiologice ;

— dau o informare diagnostică specifică care, în lipsa electroforezei, este obţinută numai indirect, prin procedee foarte complexe, de exemplu : concentrarea beta-lipoproteinelor în diagnosticul diferenţial al tipurilor II şi III şi concentrarea alfa-lipoproteinelor în stabilirea predispoziţiei familiale la cancer (90) ;

— pentru evaluarea cantitativă a eficacităţii tratamentului dietetic sau medicamentos.

Definiţia corectă a modelelor lipoproteice printr-o abordare sistematică depinde foarte mult de standardizarea secvenţelor analitice ale electroforezei. După cum am arătat, îngheţarea şi dezgheţarea alterează

modelele lipoproteice. Acelaşi efect are şi repausul îndelungat, care face ca modelele electroforetice să se deterioreze treptat, primele modificări constînd în descreşterea limitelor clare ale benzilor corespunzătoare familiilor de lipoproteine. Deteriorarea lor este întîrziată de unele substanţe (EDTA, antioxidanţi) şi depinde de temperatură, din care cauză trebuie evitată păstrarea sau manipularea îndelungată la temperatura camerei. Dacă este absolut necesar, probele pot fi păstrate mai multe luni în condiţii ideale de temperatură şi sterilitate.

Cînd este posibil, rezultatele electroforezei sînt raportate la cele furnizate de ultracentrifugarea analitică (159), care constituie în prezent standardul de laborator pentru măsurarea lipoproteinelor.

IV.5.3. METODE ULTRACENTRIFUGALE

Studiile moderne asupra lipoproteinelor se bazează pe ultracentrifugare, care separă clasele de lipoproteine în funcţie de masa şi dimensiunile macromoleculare.

PREPARAREA FRACŢIUNILOR DE LIPOPROTEINE TOTALE

Stabilirea exactă a densităţii plasmei sau serului este destul de dificilă, deoarece depinde de variaţiile în nivelul total de macromolecule şi în compoziţia de molecule mici, dar, în general, se consideră că are o densitate de 1,0063 g/ml.

Ultracentrifugarea plasmei la densitatea obişnuită a acesteia pentru o perioadă scurtă de timp, aproximativ 1 minut la 100 000 g, aduce repede chilomicronii la suprafaţă. Ultracentrifugarea mai îndelungată la această densitate permite colectarea fracţiunii VLDL la suprafaţă. Densitatea plasmei poate fi variată prin adăugarea oxidului de deuteriu sau a unor săruri. Cel mai frecvent sînt folosite două sisteme de săruri monovalente : NaCl în studiile asupra lipoproteinelor cu densitate joasă şi NaCl—NaBr în studiile asupra lipoproteinelor cu densitate mare.

Pentru ca soluţiile de săruri să fie pure şi reproductibile, se recomandă folosirea numai a sărurilor uscate obţinute prin calcinare timp de 10—12 ore la 550°C şi păstrarea într-un exicator pînă în momentul întrebuinţării.

Concentraţia soluţiilor folosite pentru corectarea densităţii va fi exprimată ca o concentraţie molală (moli/1000 g H_2O) pentru a evita dependenţa rezultatelor de temperatură, întrucît prepararea soluţiilor şi manipularea lor la temperatură riguros controlată este dificilă.

Obţinerea soluţiilor cu densitate dată este relativ uşoară şi se face pe baza unor tabele ale dispozitivului computer, dar manipularea exactă a densităţii plasmei sau serului ridică unele probleme legate de creşterea semnificativă a volumului iniţial de soluţie prin adăugarea unor cantităţi mari de săruri şi deci de variaţia în cantitatea de macromolecule totale şi în compoziţia fondului de molecule mici. Pentru obţinerea unei densităţi precise se ia în consideraţie raportul interpolat al masei sării la masa apei

Scanned with OKEN Scanner

care, fiind valabil pentru densitatea inițială și cea finală, servește la stabilirea prin calcul a cantității de sare care trebuie să aducă soluția inițială la densitatea finală. De asemenea, cunoscîndu-se masa inițială a apei și sării, masa de sare adăugată și densitatea finală a soluției, se poate deduce volumul soluției finale. Fracțiunile de ultracentrifugare preparativă necesare pentru ultracentrifuga analitică sînt fracțiuni de lipoproteine totale cu densitate sub 1,006, 1,063 și 1,203 g/ml și se obțin prin amestecul corespunzător a 2 ml ser cu 4 ml din următoarele soluții :

0,195 m NaCl ($\rho = 1{,}0063$ g/ml)

2,505 m NaCl ($\rho = 1{,}0915$ g/ml)

0,195 m NaCl + 4,507 m NaBr ($\rho = 1{,}3104$ g/ml)

(în care m = concentrația molală exprimată în moli/1 000 g H_2O).

Toate aceste soluții conțin etilendiaminotetraacetat disodic în concentrație de 10 mg/100 ml.

Centrifugarea se face în eprubete de nitrat de celuloză supuse unui tratament special, și măsurate cu atenție în lungime și diametru. Eprubetele supradimensionate se țin în apă caldă cîteva zile pentru reducerea dimensiunilor. Înainte de ultracentrifugare, eprubetele sînt imersate în apă caldă peste noapte, limpezite cu apă obișnuită de 10 ori, imersate peste noapte în apă distilată, clătite cu apă distilată de 3 ori, și apoi uscate două zile la 37°C într-un cuptor perfect curat, fără particule de praf în suspensie.

Folosirea soluțiilor cu densitate progresivă permite flotarea claselor de lipoproteine din ce în ce mai grele, care conțin din ce în ce mai puține lipide. Diferiți autori au folosit densități diferite de solvent. Metoda cea mai frecvent adoptată este cea a lui Havel, Eder și Bragdon (118) cu solvent care corectează densitatea serului la 1,006, 1,019 și 1,063 pentru separarea lipoproteinelor. În tehnica clasică, plasma este mai întîi centrifugată 16 ore la 110.000×g, ceea ce permite flotarea chilomicronilor și prebeta-lipoproteinelor. Densitatea eficace care determină această separare este densitatea plasmei excluzînd vîrfurile densității proteinelor (1,006 g/ml) și nu densitatea plasmei întregi (1,029). Se știe că lipoproteinele au o densitate mai mică decît alte proteine plasmatice, cuprinsă între 0,93 și 1,16, în timp ce densitatea proteinelor variază între 1,33 și 1,37. Fracțiunea superioară este recuperată cantitativ. Ceea ce rămîne se transferă în altă eprubetă, iar densitatea este corectată cu KBr sau NaBr la valoarea de 1,063. Aceeași forță centrifugă aplicată timp de 22 ore permite flotarea beta-lipoproteinelor. Un ultim transfer al reziduului, corectarea densității la 1,21 și o ultracentrifugare de 22—24 ore separă alfa-lipoproteinele de alte proteine plasmatice. Fracțiunile de lipoproteine totale sînt supuse apoi dializei pentru îndepărtarea soluțiilor concentrate de săruri care au servit la corectarea densităților. Deși vitezele mai mari reduc timpul de ultracentrifugare, creșterea riscului de fragmentare a eprubetei de centrifugă, însoțită implicit de pierderi în probă, a impus în procedeele moderne de ultracentrifugare preparativă reducerea vitezei

de ultracentrifugare. Astfel, ultracentrifugarea fracțiunilor cu densitate mai joasă are loc la 40 000 r.p.m. timp de 18 ore la 18°C, iar a fracțiunilor de lipoproteine cu densitate mare (HDL) în aceleași condiții de temperatură, cu aceeași viteză, timp de 24—26 ore (fig. II.1).

Unii autori recomandă umplerea aproape totală a eprubetelor de ultracentrifugare preparativă cu material suplimentar pentru reducerea pierderilor de probă în cazul unor viteze mari de rotație, procedeu care are însă dezavantajul îndepărtării cu mai mare dificultate a fracțiunilor lipoporoteinelor separate.

ULTRACENTRIFUGAREA SECVENȚIALĂ SAU SEPARATOARE

În prima etapă s-a obținut separarea familiilor majore de lipoproteine în două fracțiuni : ultracentrifugarea la densitate 1,006 separă fracțiunea chilomicronilor + prebeta, care ajunge în partea superioară a tubului, de fracțiunea alfa + beta care formează reziduul, în acesta din urmă fiind incluse și toate celelalte proteine plasmatice. Ultracentrifugarea separatoare realizează izolarea fiecărei fracțiuni lipoproteice. O problemă mai dificilă este separarea chilomicronilor exogeni de lipoproteinele endogene cu densitate foarte joasă. În prezent, chilomicronii sînt definiți ca lipoproteine a căror viteză de flotare depășește valoarea 400, iar lipoproteinele cu densitate foarte joasă sînt lipoproteine cu viteză de flotare între 20 și 400. Această definiție nu corespunde întru totul realității deoarece cele două clase se pot suprapune parțial (există lipoproteine exogene a căror valoare Sf este sub 400 și lipoproteine endogene a căror valoare Sf depășește 400), dar este acceptată cu caracter operațional.

Chilomicronii, cînd sînt prezenți în cantitate mare în ser, pot fi obținuți prin ultracentrifugarea serului cu $\rho = 1{,}0259$ g/ml la 23°C cu o viteză de 25 000 r.p.m. În acest caz se folosește rotorul SW 25,3 cu manșoane pentru eprubete de ultracentrifugare preparativă de 0,5×2,5. La valorile serice $\eta = 1{,}755$ și $\rho = 1{,}0259$ g/ml și o temperatură de 23°C este necesară o centrifugare de $5{,}74 \times 10^6$ g/min, timp de 79,9 minute de centrifugare la viteza maximă de 25 000 r.p.m. (în care se includ și timpii de accelerare și încetinire). După centrifugare eprubetele sînt îndepărtate din manșoane și menținute înclinate sub un unghi de 45°. Se șterge fundul eprubetei cu un tifon înmuiat în apă distilată, se usucă și apoi se înțeapă partea cea mai de jos a eprubetei și se colectează 6,5 ml subnatant reprezentat prin fracțiunea cu Sf sub 400. Supranatantul de 0,5 ml conține lipoproteine cu Sf peste 400, dar și o oarecare cantitate de lipoproteine cu densitate foarte joasă, Sf 20—400. În prepararea fracțiunilor VLDL, îndepărtarea supernatantului prezintă avantajul că îndepărtează lipoproteinele Sf peste 400, dar și dezavantajul că e însoțită de o regăsire parțială a VLDL în subnatant ; cu toate acestea este recomandată în cazul serurilor cu cantitate mare de chilomicroni, deoarece avantajele sînt mai mari decît dezavantajele.

Pentru izolarea secvențială a fracțiunilor VLDL, LDL și HDL se supune centrifugării la 40 000 r.p.m., timp de 18 ore, un volum de 6 ml

soluție serică care conține 2—6 ml infranatant seric cu Sf sub 400 corectat cu NaCl cu $\rho = 1{,}0063$ g/ml. În acest caz se folosește o ultracentrifugă preparativă Beckman cu rotor 40,3 sau 50,3 și cuve de nitrat de celuloză 0,5—2,5. Fracțiunea VLDL din clasa Sf 20—400 este îndepărtată cantitativ în prima fracțiune de 1 ml, iar al doilea mililitru este luat ca referință. Apoi cei 4 ml din partea inferioară sînt corectați cu 2 ml NaCl + NaBr la densitatea finală de 1,065 g/ml timp de 18 ore, care determină separarea LDL din Sf 0—20 în primul ml din partea superioară a eprubetei, iar al doilea ml este luat ca referință (137). Pentru separarea fracțiunii LDL se adaugă la cei 4 ml soluție rămasă 2 ml soluție NaCl + KBr pentru corectarea densității la 1,216 g/ml și se supun ultracentrifugării 24—26 ore. Fracțiunea HDL va fi recuperată din fracțiunea de 1 ml din partea superioară, iar următoarea fracțiune de 0,5 ml este luată ca referință.

Pentru verificarea densităților soluțiilor serice de lucru se recomandă să se determine refractometric densitatea fiecărei fracțiuni, îndeosebi a celor de referință. Refractometrul este termostatat la $26 \pm 0{,}03°C$, verificîndu-se temperatura.

În timpul ultracentrifugării preparative se produce o redistribuire apreciabilă a sărurilor, dinspre partea superioară spre cea inferioară a eprubetei preparative, a cărei intensitate depinde de natura și concentrația de săruri ca și de natura centrifugării. Practic, o picătură din soluția de lipoproteine se pune în centrul unei prisme de sticlă care este închisă imediat, iar după exact 1 minut se face citirea. Respectarea acestui interval de timp de la aplicarea probei pînă la citire este obligatorie, deoarece este suficient de scurt pentru a nu permite evaporare semnificativă, dar și suficient pentru echilibrarea temperaturii. După fiecare determinare refactometrică se spală suprafața prismelor cu apă distilată și se șterge cu un tifon care nu lasă scame. Pentru corectarea densității se extrapolează densitatea celei de-a doua fracțiuni de 1 ml sau 0,5 ml pentru a obține indicele de refracție corespunzător mediului și densitatea fracțiunilor lipoproteice.

Pentru îndepărtarea cantitativă a fracțiunilor rezultate în urma ultracentrifugării preparative se consideră că cele mai bune rezultate se obțin prin pipetarea fracțiunii supernatante cu evaluare optică a limitelor ei și cu grijă pentru a nu perturba infranatantul. Pipetarea se va face într-o cameră întunecoasă, pe un dispozitiv de fixare pe care cade o rază de lumină focalizată care permite vizualizarea lipoproteinelor prin dispersie Tyndall.

De obicei, clasele de lipoproteine sînt izolate în prima fracțiune de 1 ml rezultată în urma ultracentrifugării la densități diferite, iar a doua fracțiune de 1 ml este luată ca referință pentru determinarea refractometrică a concentrației de bază a sărurilor. De aceea pentru fiecare fracțiune lipoproteică se fac două pipetări : a primului ml care conține cantitativ fracțiunea lipoproteică și a celui de al 2-lea ml (uneori 0,5 ml) care constituie mediul de referință pentru verificarea densității probei date prin refractometrie. Cînd însă una din clasele de lipoproteine este

prezentă în ser în cantitate excesivă, se ia în consideraţie prima fracţiune de 2ml, iar fracţiunea următoare de 1 ml este luată ca referinţă.

Fracţiunile izolate sînt păstrate în eprubete cu dop de 9 ml la 23°C.

În cazul cînd ultracentrifugarea separatoare nu este urmată de ultracentrifugarea analitică, refractometria constituie singura metodă de evaluare a VLDL şi LDL. Deoarece determinarea refractometrică nu necesită decît o picătură de fracţiune lipoproteică, fracţiunile pot servi în continuare la determinarea în ultracentrifuga analitică sau pentru determinări de lipide şi proteine. Dacă se practică ulterior ultracentrifugarea analitică, refractometria serveşte la controlul concentraţiei lipoproteinelor şi indică dacă centrifugarea are loc la concentraţia optimă. Spre exemplu, dacă concentraţia LDL depăşeşte 1 300 mg/100 ml, proba va fi diluată pentru a evita repetarea ultracentrifugării care este costisitoare. În plus, dacă se determină refractometric serul total şi se cunoaşte conţinutul total lipoproteic al serului, se poate calcula o valoare exactă şi reproductibilă pentru proteinele serice totale.

ULTRACENTRIFUGAREA ANALITICĂ

Ultracentrifugarea analitică este tehnica de fracţionare cea mai completă care permite obţinerea unor tablouri complete ale compoziţiei şi proprietăţilor fiecărei clase.

Ultracentrifugarea analitică se poate practica în urma ultracentrifugării preparative şi va studia clasele de lipoproteine în funcţie de densitatea şi talia moleculelor. Această metodă poate determina cantitativ un număr aproape nelimitat de subclase Sf de lipoproteine care se deosebesc prin parametrii caracteristici ai densităţilor lor. Pentru studiile curente clinice sau experimentale sînt importante însă numai cele 4 familii de lipoproteine majore menţionate.

În ultracentrifuga analitică se folosesc cuve obişnuite de 2,5 cu două sectoare : sectorul probei şi sectorul liniei de bază, fiecare sector fiind umplut cu 0,415 ml cu ajutorul unor seringi calibrate. Cuvele sînt prevăzute cu piese centrale de 12 mm grosime, în fiecare piesă centrală existînd un rezervor care permite egalizarea meniscului în ambele sectoare ale cuvei, însă fără schimb de lichid dintr-un sector în altul. După fiecare folosire, piesele centrale sînt spălate cu apă folosind un dispozitiv special tubular, apoi într-o baie de curăţire ultrasonică, după care se clătesc cu apă distilată şi se usucă cu un suflător de aer cald. Poziţia exactă a cuvelor este foarte importantă în determinarea lipoproteinelor flotante şi cu toate că reglarea este asigurată în rotor cu ajutorul unui dispozitiv optic, uneori cuvele se rotesc uşor după reglare, ceea ce determină apariţia de striaţii în modelul limitelor succesive dintre fracţiunile lipoproteice. Modificarea poziţiei poate fi corectată prin folosirea unor cantităţi mici de ulei de silicon greu, care însă prezintă inconvenientul că modifică parţial greutatea cuvelor analitice.

Deoarece ultracentrifugarea lipoproteinelor presupune flotarea acestora în soluţie de săruri, în timpul centrifugării se produce o redistribuire

Scanned with OKEN Scanner

semnificativă a sărurilor. Reproductibilitatea fazei de accelerare a centrifugării în timpul căreia se produce o migrare semnificativă a macromoleculelor este asigurată de un accelerator automat, care face să crească intensitatea curentului de alimentare la motor de la 0 la 14 A în exact 10 secunde și menține curentul maxim constant pînă cînd se atinge viteza plină (FS).

Calibrarea ultracentrifugării analitice pentru analiza lipoproteinelor se face corespunzător cu o cuvă de calibrare Beckman. Pentru determinările de rutină, operațiunea se repetă la intervale de 4 luni. De asemenea, este necesară efectuarea calibrării după orice manipulare a sistemului optic, sau după o modificare a sistemului de control. Deși se folosesc filme cu stabilitate mare, calibrarea se impune pentru fiecare lot nou de filme.

Concentrația lipoproteinelor se exprimă în mod curent ca masă pe unitatea de volum, cu toate că poate fi dedusă și din creșterea indicelui de refracție totală. Calculul concentrației se face pornind de la presupunerea că indicele de refracție specific (SRI) crește constant cu 0,00154 Δ n/g/100 ml pentru clasa Sf 0—400 de TLDL (LDL total) determinată în NaCl 1,063 g/ml. Pentru lipoproteinele cu densitate mare, concentrațiile sînt calculate pornind de la presupunerea unei creșteri constante a indicelui de refracție specific de 0,0149 Δ n/g/100 ml evaluat în NaBr 1,203 g/ml.

Ultracentrifuga analitică permite studiul fiecărei fracțiuni după viteza de flotare datorită unui sistem optic care înregistrează în serie, prin fotografiere, limitele lipoproteinelor flotante folosite apoi la determinarea concentrațiilor prin raportare la anumite condiții standard. Această tehnică de fracționare folosește ser cu densitatea de aproximativ 1,063. Lipoproteinele cu densitate sub 1,063 sînt descrise în termeni de „viteză de flotare“ sau „coeficient de flotare“. De obicei chilomicronii nu sînt evaluați prin această metodă, dar trebuie să fie separați și determinați în prealabil. Ultracentrifugarea analitică furnizează evaluarea cantitativă a fracțiunii LDL (Sf 0—20) și fracțiunii VLDL (Sf 20—400) și a multor subclase ai căror parametri variază între aceste limite de Sf. În mod obișnuit se iau în considerație fotografiile făcute la timpii 0 ; 6 și 30 de minute pentru determinările la densitate joasă a lipoproteinelor Sf 100—400, Sf 20—100 și, respectiv, Sf 0—20, iar timpul 64 de minute este indicat pentru determinările la densitate mare. Totuși, cînd concentrația serului în lipoproteinele Sf 20—400 nu depășește 150 mg/100 ml, se recomandă ca lipoproteinele Sf 20—100 să fie evaluate în intervalul de două minute apropiat de momentul în care se atinge viteza maximă.

Toate datele pentru fiecare centrifugare sînt transcrise în sistemul de cartele perforate dînd densitatea fiecărei fracțiuni, concentrația relativă la ser și condițiile centrifugării analitice (temperatură, date de calibrare a mașinii și informația codificată alfanumerică despre fracțiunile lipoproteice). Apoi aceste date sînt prezentate în formă de grafic al spectrului care permite evaluarea optică rapidă, compararea probelor și obținerea mediilor pentru o populație dată, ca și calea de detectare a erorilor.

Scanned with OKEN Scanner

Constanta de sedimentare definită ca viteză pe unitatea de cîmp, obţinută pentru lipoproteine într-un mediu de densitate definită, este dată de relaţia :

$$S = \frac{v}{\omega 2^x} = \frac{M(1 - Vd)}{F}$$

în care :

v = viteza de sedimentare
x = distanţa între particule şi axa de rotaţie
ω = viteza unghiulară
d = densitatea
M = masa moleculară
V = volumul specific
F = coeficientul de fricţie molară.

După cum rezultă din formulă, constanta de sedimentare este direct proporţională cu masa moleculară şi invers proporţională cu coeficientul de fricţie molară. Această constantă se exprimă în unităţi Svedberg.

Ultracentrifugarea analitică evidenţiază 5 tipuri fundamentale, dar şi o serie de modele care par să reprezinte variaţii sau combinaţii ale tipurilor de bază. Detalii asupra acestora se găsesc în capitolul V.3.2.

Ultracentrifugarea analitică este tehnica de fracţionare cea mai indicată deoarece permite obţinerea unor informaţii complete asupra compoziţiei fiecărei clase şi a unui număr foarte mare de subclase de lipoproteine, precum şi a proprietăţilor acestora, dar nu este accesibilă decît în unele laboratoare.

ULTRACENTRIFUGAREA ZONALĂ (222, 234)

Ultracentrifugarea zonală permite izolarea simultană şi rapidă a lipoproteinelor plasmatice. Metoda se bazează pe separarea claselor lipoproteice prin centrifugare în gradient de densitate în rotoare zonale. Prezentăm în tabelul IV.5 parametrii caracteristici rotoarelor Beckman (222).

Soluţiile de lucru se pompează în interiorul rotorului printr-un canal spre centru sau prin intermediul a 4 linii din sept spre periferia rotorului. Deoarece mai frecvent probele de plasmă sînt plasate la periferia rotorului, separarea diferitelor clase de lipoproteine se face pe baza diferenţei în viteza de flotare a acestora.

Concentraţiile corespunzătoare de săruri pentru izolarea claselor de lipoproteine sînt introduse prin liniile care duc la periferia rotorului, apoi se injectează proba în gradientul de densitate cel mai mare şi se umple complet rotorul cu soluţii adiţionale cu densitate mare. Toate aceste operaţiuni se desfăşoară cu ansamblul static aşezat în poziţie de lucru pe rotorul care se învîrte la 3 000 r.p.m. După această etapă preliminară, se îndepărtează corpul static şi se face centrifugarea la viteza şi timpul dorit. Se micşorează apoi viteza rotorului la 3 000 r.p.m., se repune corpul static în poziţie şi se pompează, prin canalele periferice, o soluţie cu

Tabelul IV.6

Parametrii rotoarelor Beckman

	Rotor	
	Ti-14	Ti-15
1. Volum (ml)	650	1 665
2. Lungime de undă (cm)	5,3	7,5
3. Rază maximală (cm)	6,67	8,89
4. Viteză maximală (r.p.m.)	48 000	35 000
5. Forță maximă	172 000	122 000
6. Forță maximă corectată pentru gradient (d = 1,4)	148 000	105 000

densitate mare pentru a evacua conținutul rotorului prin linia de centru. Soluția care iese din rotor este colectată în porțiuni mici, de obicei 25 ml, și verificată la 280 nm.

Gradientul frecvent folosit pentru izolarea preparativă a lipoproteinelor plasmatice este de ordinul 1,0—1,4. În toate soluțiile de lucru s-a adăugat EDTA 1 mM pentru a preveni denaturarea lipoproteinelor prin oxidare catalizată probabil de ionii metalici prezenți în sărurile folosite pentru realizarea gradientelor.

Clasele HDL, LDL și VLDL au fost identificate după 12—18 ore de centrifugare zonală în rotorul Ti-14 sau Ti-15, deși nu se obține separarea simultană cantitativă a fiecărei clase. HDL poate fi izolat corespunzător din lipoproteinele cu densitate mare după 24 de ore de centrifugare, iar VLDL și LDL care se deplasează rapid în gradient de densitate și se unesc după centrifugare de 24 ore necesită un procedeu special, în două etape :

— etapa 1 : se colectează VLDL + LDL după centrifugare de 2 ore sau 5 ore în rotorul Ti-14 și respectiv Ti-15. Se introduce gradientul proaspăt în rotor după îndepărtarea VLDL și LDL pentru a reface soluția de gradient îndepărtată ;

— etapa 2 : se continuă centrifugarea 24 de ore pentru separarea HDL de proteinele plasmatice reziduale cu densitate mai mare. Folosind acest procedeu, separarea cantitativă a fost obținută cu 20—50 ml plasmă în rotorul Ti-14 sau 20—150 ml în Ti-15.

Rotorul Ti—15 are putere de rezoluție mai mare ca Ti—14 și permite o mai bună vizualizare a vîrfului asimetric în gradient. Fracțiunea VLDL izolată în etapa 1 a fost subîmpărțită în 3 subgrupe : chilomicroni, VLDL și o fracțiune contaminată care pare a fi identificată cu proteinele serice cu densitate mai mare. Subfracționarea a fost desăvîrșită prin centrifugarea fracțiunii VLDL-chilomicroni în rotorul Ti—14, timp de 30 de minute la 30 000 r.p.m., în gradient de densitate de ordinul 1—1,1.

Ultracentrifugarea în gradient de densitate în rotorul zonal este o metodă comodă și reproductibilă pentru izolarea preparativă a lipopro-

teinelor plasmatice. În acelaşi timp s-a evaluat capacitatea analitică a acestei metode prin subfracţionarea particulelor care conţin trigliceride prezente în plasma subiecţilor după ingestia de hrană şi s-a constatat că izolarea repetată, concentrarea şi recentrifugarea diferitelor fracţiuni nu denaturează apreciabil lipoproteinele. O fracţiune dată migrează la recentrifugare în aceeaşi poziţie dacă se respectă condiţiile de centrifugare în ce priveşte gradientul de densitate, viteza şi intervalul de timp.

Potenţialul ultracentrifugării zonale în izolarea, subfracţionarea şi purificarea lipoproteinelor plasmatice, este dovedit şi de profilul lipoproteic al fracţiunii HDL care arată două subclase distincte deşi incomplet separate.

IV.5.4. ALTE METODE

A. METODE NEFELOMETRICE

Proprietăţile fizice — densitatea şi mărimea — sînt aspecte caracteristice distinctive ale lipoproteinelor, de aceea separarea lipoproteinelor pe baza mărimii particulelor reprezintă o modalitate tot atît de importantă de caracterizare a lipoproteinelor ca şi tehnicile de separare bazate pe diferenţele în densitatea acestora.

Lipoproteinele cu densitate foarte joasă, inclusiv chilomicronii, pot fi separate pe baza capacităţii lor de a trece prin filtru de membrană cu dimensiuni variate ale porilor care să permită trecerea exclusivă a particulelor de un anumit ordin de mărime. Această separare diferenţială în funcţie de mărimea particulelor dă o evaluare empirică a concentraţiei particulelor care dispersează lumina dintr-o probă dată, sau concentraţia relativă a unor fracţiuni separate prin ultrafiltrare.

Nefelometria se bazează pe faptul că o rază de lumină care trece printr-o soluţie coloidală sau suspensie îşi pierde intensitatea datorită dispersiei de către particulele suspendate în calea sa. Cantitatea de lumină dispersată creşte proporţional cu numărul şi mărimea particulelor şi intensitatea luminii dispersate poate fi evaluată cu un fotometru corespunzător. La acest studiu se pretează îndeosebi lipoproteinele cu densitate foarte joasă (Sf 10—20), care cuprind particule cu mărimea de aproximativ 0,02—1 μ, acest ordin de mărime dispersînd o cantitate considerabilă de lumină.

Studiile asupra dispersiei luminii de către lipoproteinele serului uman nu sînt prea numeroase. Moreton (161) a studiat dispersia luminii de către lipoproteinele serice, ajungînd la concluzia că serul de post al subiecţilor normali are aceeaşi valoare a indicelui de dispersie a luminii şi realizează curbele de toleranţă la grăsimi bazate pe creşterea indicelui de dispersie în timpul chilomicronemiei induse.

Se ştie că lipoproteinele cu diametru mare, îndeosebi cele peste 100 mμ, bogate în trigliceride, determină creşterea turbidităţii serului. Legitatea raportului între turbiditate şi nivelul trigliceridelor serice a fost studiată de Albrink şi colab. (7), care consideră că lactescenţa este direct

proporţională cu concentraţia totală a trigliceridelor serice, concluzie infirmată parţial de Angervall (10) care afirmă că, deşi există o legătură între turbiditate şi trigliceridele serului de post, dispersia particulelor limitează valoarea *screening*-testului de turbiditate.

Maclagan şi colab. (150), folosesc nefelometrul pentru măsurarea lipemiei postprandiale, iar Bierman şi colab. (29) evaluează concentraţia de chilomicroni după floculare diferenţială în gradient de densitate. Pentru aceasta ei folosesc coloane speciale de floculare în care se obţine o separare a două grupe, distincte ca mărime, de particule lipoproteice în plasma lipemică, şi anume : particule primare de ordinul a 200 mμ care flotează în partea superioară a coloanelor şi o distribuţie considerabil mai mare a particulelor cu ordinul de mărime 100—600 mμ, similară pentru particulele primare şi secundare.

Stone şi colab. (206, 207, 208) studiază, pentru prima dată, corelaţia matematică între intensitatea de dispersie a luminii şi nivelul trigliceridelor serice. Ei au propus o metodă simplă pentru estimarea concentraţiei lipoproteinelor bogate în trigliceride (Sf 0—20 ; 20—400 şi peste 400) care foloseşte tehnica de filtrare prin membrană şi nefelometria. Chilomicronii au fost separaţi de VLDL (Sf 20—400) prin filtrarea serului diluat, după care s-a evaluat concentraţia particulelor în fiecare fracţiune prin măsurarea intensităţii luminii dispersate. S-a demonstrat o strînsă corelaţie între această măsurare a concentraţiei de VLDL şi nivelul trigliceridelor serice. Totodată s-a demonstrat validitatea filtrării prin filtre de membrană şi a nefelometriei pentru separarea şi evaluarea cantitativă a particulelor cu ordinul de mărime care corespunde lipoproteinelor din clasa Sf peste 400, care nu pot fi evaluate prin tehnica de ultracentrifugare.

În varianta iniţială (206) se proceda la măsurarea luminii dispersate prin probele de ser de post diluat sau nediluat cu ajutorul unui micronefelometru, această metodă servind ca *screening*-test aplicabil unui număr mare de probe.

Ulterior s-a propus perfecţionarea acestei tehnici (207, 208), care constă în filtrarea serului diluat pentru separarea în clase a lipoproteinelor, în funcţie de capacitatea lor de a trece prin membrane de esteri ai celulozei cu mărime dată a porilor şi evaluarea concentraţiei relative a particulelor de diferite mărimi prin măsurarea modificărilor în intensitatea luminii dispersate după fiecare filtrare.

Material şi metodă. Se recoltează sînge de la subiecţi după 14 ore de post. Se lasă să se închege la temperatura camerei, se centrifughează 20 de minute la 3 000 r.p.m. şi apoi se decantează serul cu mare atenţie. Se repetă centrifugarea pentru a înlătura orice alte particule care dispersează lumina şi ar putea interfera astfel în dozare.

Evaluarea are loc în două etape : ultrafiltrarea şi măsurarea intensităţii dispersiei luminii.

a. *Ultrafiltrarea.* Filtrarea preliminară se foloseşte ca procedeu de rutină pentru îndepărtarea particulelor cu diametru sub 0,4 μ care influenţează slab, dar relativ constant, intensitatea luminii dispersate.

Probele de ser se diluează în seringi de plastic ; filtrarea se face prin filtru de membrană cu diametrul de 0,45 μ, avînd grijă să se înlăture primele 10 picături de filtrat şi se colectează următorii 2,5 ml probă pentru estimarea intensităţii luminii dispersate într-un micronefelometru. Restul probei care trece prin filtrul membranei respective se colectează într-un cilindru gradat şi se recuperează apoi într-o seringă de plastic uscată, de unde este trecut în continuare printr-un filtru de membrană de 0,1 μ. Operaţiunea este similară celei dinainte, adică primele 10 picături se aruncă, următorii 2,5 ml se folosesc pentru măsurarea intensităţii luminii dispersate. Aliquotele de 2,5 ml se lasă în repaus cel puţin 10 minute, apoi se agită cu grijă pentru omogenizare, evitîndu-se formarea bulelor de aer.

b. *Măsurarea intensităţii luminii dispersate.* Determinările au arătat că intensitatea luminii dispersate de către serul nediluat e proporţională cu conţinutul în trigliceride pînă la o concentraţie de 200 mg/100 ml. La această concentraţie a trigliceridelor, probele de ser apar clare sau foarte slab opalescente la testul plasmei de repaus, putînd fi folosite fără diluţie.

Probele cu concentraţie mai mare de trigliceride, de la slab opalescente la intens lactescente, nu pot fi folosite ca atare şi se diluează pînă cînd apar clare sau numai slab opalescente. Pentru ser clar sau slab opalescent se folosesc 2,5 ml ser nediluat. Pentru ser lactescent se face diluţia serului (frecvent 1 : 10) în ser fiziologic, în care caz se folosesc 0,25 ml ser.

În general se fac 4 determinări :

1. Ser nediluat
2. Ser diluat 1 : 10 ser fiziologic, 0,9%, nefiltrat
3. Ser diluat 1 : 10, după trecerea prin filtrul de membrană 0,45 μ
4. Filtrat din etapa anterioară, după trecerea prin filtrul de membrană 0,1 μ.

Dacă este necesară separarea fracţiunii VLDL se procedează la filtrarea soluţiei rezultate din ultima etapă prin filtru de membrană cu mărimea porilor sub 0,1 μ.

Concentraţia lipoproteinelor din clasa Sf peste 400 este măsurată în unităţi de intensitate a luminii dispersate şi se exprimă prin simbolul chilomicroni (LDI). Convertirea acestui simbol în concentraţie aproximativă de lipoproteine exprimată în mg/100 ml ser se face conform ecuaţiilor :

Tg-chilomicroni = chilomicroni (LDI) × 0,75 mg/100 ml.

Dat fiind că Tg-chilomicroni total = 85% din masa lipoproteinei respective, obţinem ecuaţia :

$$\text{Concentraţia Sf peste 400} = \text{chilomicroni (LDI)} \times 0{,}75 \times \frac{100}{85} \text{ mg/100 ml} = \text{chilomicroni (LDI)} \times 0{,}9 \text{ mg/100 ml.}$$

Factori care influenţează intensitatea luminii dispersate.

Experienţa a demonstrat că bilirubina interferă absorbind o mare cantitate de lumină roşie (650 mμ) şi determinînd rezultate fals crescute,

ceea ce impune diluarea serului intens icteric 1:10 cu ser fiziologic. La această diluţie absorbţia devine neglijabilă şi nu afectează semnificativ rezultatele.

Hemoliza nu modifică intensitatea luminii dispersate, deci nu se impun precauţii speciale legate de acest fenomen.

Constatarea dependenţei indicelui de dispersie a luminii faţă de temperatură, care se manifestă în descreşterea valorii sale în medie cu 0,9% pentru fiecare creştere a temperaturii cu 1°C a impus necesitatea standardizării temperaturii de citire a probelor la 20°C.

Efectuarea determinărilor nefelometrice trebuie să aibă loc cît mai repede după recoltare, la cîteva ore de la prepararea probelor de ser care sînt menţinute tot timpul la 20°C, deoarece păstrarea timp de 1—3 zile la 0—4°C determină modificarea intensităţii luminii dispersate cu aproximativ 5%. Probele păstrate timp mai îndelungat, chiar în stare filtrată, produc modificări pronunţate şi variabile.

Compararea rezultatelor obţinute prin filtrare de membrană combinată cu nefelometria, cu cele furnizate de ultracentrifugarea analitică (207), a demonstrat corelaţia între lipoproteinele din clasa Sf 20—400 şi cele estimate nefelometric. Deşi metodele nefelometrice nu furnizează o evaluare directă a concentraţiei lipoproteinelor din clasa Sf 0—20, acestea pot fi deduse cu un grad mare de exactitate din determinările nefelometrice şi estimarea colesterolului seric total.

B. METODE IMUNOCHIMICE LP-X

Lipoproteina X (LP-X) are caracteristici chimice şi imunochimice diferite de cele ale LDL normale datorită unui conţinut bogat în colesterol şi fosfolipide.

După completa delipidare prin etanol şi eter la temperatură joasă aceste lipoproteine migrează în regiunea electroforetică alfa (47), spre deosebire de celelalte două fracţiuni ale lipoproteinelor beta : LP-A şi LP-B care au mobilitate electroforetică obişnuită în poziţia beta.

Partea proteică a LP-X (Apo-X) este constituită din 40% albumină şi 60% apolipoproteină C (Apo-C). Deoarece albumina este înglobată în interiorul moleculei, nu se poate evidenţia în LP-X nativ cu un antiser specific antialbuminic, scindarea ei necesitînd un tratament energic cu n-heptan sau cu fosfolipază A_2 care evidenţiază albumina făcînd posibilă reacţia cu serul antialbuminic.

Apo-C constă în 3 componente antigenice, care la imunoelectroforeză în gel de agar, în prezenţa antiserului anti-LP-X, evidenţiază 3 arcuri de precipitare diferite, iar la electroforeza în gel de poliacrilamid dau 3 benzi caracteristice cu migrare rapidă şi o bandă slabă în apropierea startului, ceea ce demonstrează multiplicitatea antigenică a componentelor polipeptidice neidentice ale Apo-C.

LP-X nativ reacţionează numai cu antiserul anti-LP-C.

Scanned with OKEN Scanner

Mobilitatea electroforetică a LP-X nativ este diferențiată după suport : LP-X migrează în poziția lipoproteinelor beta lente pe hîrtie, agaroză, amidon, poliacrilamid și spre catod în gel de agar. În schimb, Apo-X are mobilitate alfa la electroforeza în gel de agar.

Material și metodă. Dozarea LP-X este importantă în diagnostic și terapie. Se folosește ser prelevat dimineața și conservat la 4°C pînă în momentul utilizării. Nu se admite folosirea de ser înghețat în prealabil, deoarece înghețarea produce modificări ireversibile.

Cercetările au demonstrat că LP-X rămîne stabilă 3—4 luni dacă conservarea serului se face la 4°, după care concentrația sa scade, din care cauză nu se permite păstrarea mai îndelungată a serului.

Imunodifuziunea după Ouchterlony. Se aplică tehnica Ouchterlony modificată de Burstein care propune înlocuirea agarului cu agaroză 1% (48).

Se prepară agaroză 1% în tampon vernoal *p*H = 8,2 și forță ionică 0,04 M, la care se adaugă lactat de calciu 2 mM prin încălzire în baie de apă la 100°C. Se lasă agaroza să se răcească la 60°C, se toarnă pe suporturi în cantitate de 0,1 ml/cm^2 și se lasă să se închege la temperatura camerei 1 oră. Dacă nu se folosesc imediat, suporturile cu agaroză astfel preparate se pot conserva la 4°C. Difuziunea se practică în cameră umedă la 37°C, iar rezultatele se citesc după 24—48 de ore.

Deoarece folosește un antiser monospecific anti-LP-X, care poate să reacționeze și cu Apo-C al VLDL, metoda Ouchterlony este mai puțin specifică decît metoda Seidel.

Tehnica Seidel (193, 194, 195). Se bazează pe migrarea tipic catodică a LP-X în gel de agar și combină electroforeza în acest mediu cu precipitarea imunologică a lipoproteinelor în prezența unui antiser specific anti-LP-X.

Electoforeza se practică pe plăci de 8×10 cm pe care se toarnă gelul de agar 1% preparat în tampon veronal cu *p*H 8,6 și forță ionică 0,05 M. Aplicarea serului se poate face după 6 ore de la turnarea agarului. Dacă nu se poate respecta acest interval de timp, plăcile se pot conserva pînă la 48 de ore după prepararea în cameră umedă la temperatura camerei. Pentru migrarea electroforetică, se indică același tampon folosit și pentru prepararea agarului. Migrarea se face 60 de minute la o tensiune 8 v/cm, după care se îndepărtează orice urmă de lichid și se aplică antiserul anti LP-X.

Aplicarea antiserului se poate face în două moduri :

— fie într-un orificiu cu diametrul de 4 mm aflat între două orificii de însămînțare la distanță de 10 mm de latura catodică a migrării (în prezența lipoproteinei-X apare o bandă de precipitare la 2—10 mm de punctul de aplicare a serului) ;

— fie ca picătura (10 μl) aplicată pe suprafața gelului de agar la o distanță de 3—5 mm de orificiul unic, localizat totdeauna pe latura catodică a migrării. Difuziunea se realizează în cameră umedă la 37°C. În acest caz, precipitatul apare împrejurul locului de depunere a antiserului.

Cînd antiserul este depus ca picătură, apariţia precipitatului durează 2—10 ore, în timp ce dacă depunerea se face în orificiu, precipitatul apare după 24—48 de ore. După apariţia precipitatului se procedează la fixare prin imersia suportului în NaCl 0,9%, 24 de ore, după care se usucă gelul acoperit cu o hîrtie de filtru umedă la 37°C. Apoi se face colorarea timp de 15 minute, în soluţie de albastru Coomassie (Coomassie 0,2% în metanol/apă/acid acetic 9/9/2 v/v.)

Imunoelectroforeza. Se practică în gel de agar 1% preparat cu tampon veronal *p*H 8,6 şi forţă ionică 0,05 M, orificiul de umplere fiind la egală distanţă de anod şi catod. Migrarea se face timp de 120 minute la o tensiune constantă de 8 v/cm, folosind în camera de electroforeză acelaşi tampon veronal. Imunodifuziunea se realizează în camera umedă la 37°C timp de 24—48 de ore, după care se face colorarea gelului după tehnica Seidel.

Mai recent, Magnani şi Alaupovic (151) au propus o metodă care se bazează pe migrarea tipică catodică a LP-X la electroforeza în gel de agar şi pe conţinutul constant în fosfolipide.

C. METODE DE PRECIPITARE

Metodele de precipitare se află printre cele mai vechi tehnici de fracţionare a lipoproteinelor şi sînt foarte utile în izolarea lipoproteinelor pure. S-au pus la punct metode pentru recunoaşterea tuturor familiilor de lipoproteine prin precipitare diferenţială.

Fracţionarea cu alcool la temperaturi scăzute după tehnica Cohn permite separarea unei fracţiuni care include cea mai mare parte a lipoproteinelor beta şi a unei fracţiuni bogate în alfa-lipoproteine.

Separarea clasei HDL se poate obţine prin precipitarea celorlalte familii : LDL, VLDL şi chilomicroni care formează complexe cu heparina sau sulfatul de dextran. În prezenţa cationilor de Mg^{++} şi Mn^{++}, complexele respective precipită, lăsînd în soluţie numai HDL solubile (49, 50).

Combinarea flotării cu precipitarea cu polivinilpirolidon în tehnica Gordis şi Bierman este folosită pentru a separa particulele mari şi a diferenţia chilomicronii de VLDL. Această tehnică este utilă în distingerea hiperlipemiei endogene de cea exogenă şi folosită îndeosebi în lucrările de preparare a fracţiunilor lipoproteice, deoarece particulele de floculare pot fi păstrate pentru dozările de lipide şi alte analize.

Alte amănunte cu privire la tehnicile de precipitare au fost prezentate anterior.

Dozarea beta-lipoproteinelor prin metoda Burstein şi Samaille (50)

Metoda Burstein este una dintre puţinele metode directe de evaluare a beta-lipoproteinelor, caracterizîndu-se prin mare exactitate şi simplitate. Se pretează îndeosebi analizelor de serie, conţinutul de beta-lipoproteine al serurilor nelipemice fiind apreciat uşor prin evaluarea turbidităţii înainte şi după adăugarea clorurii de calciu în prezenţa căreia beta-lipoproteinele sînt precipitate selectiv de către heparină.

Reactivi: a) *Clorura de calciu 25 mM.* Se conservă la rece. b) *Soluţie de heparină şi clorură de sodiu.* Se obţine prin adăugarea a 4 ml ser fiziologic la 1 ml soluţie de heparină 1%.

Procedeu. Se pipetează în eprubete obişnuite 1 ml clorură de calciu, 0,02 ml soluţie de heparină în ser fiziologic şi 0,02 ml ser. Pentru fiecare probă se pregăteşte un blanc, procedîndu-se în mod similar, dar înlocuind soluţia de heparină cu 0,02 ml apă distilată.

Se lasă în repaus la temperatura camerei aproximativ 5 minute, apoi se citeşte extincţia probelor şi blancurilor faţă de apă distilată sau extincţia fiecărei probe faţă de blancul corespunzător la 640—650 mμ.

Calcul. Rezultatele sînt indicate direct în unităţi de extincţie, după formulele :

1. Turbiditatea serului : $E = A_1 \times \frac{VF}{VA}$; $E = A_1 \cdot 52$

2. Conţinutul de beta-lipoproteine : $E = (A_2 - A_1) \cdot 52$
în care : A_2 = extincţia probei
A_1 = extincţia blancului

Valorile normale

1. Turbiditatea serului : 0,0100
2. Beta-lipoproteine : 4—10 U.E.

Determinările trebuie făcute în ziua recoltării sîngelui.

IV.5.5. ELECTROCROMATOGRAFIA

Electrocromatografia este o metodă de separare a lipoproteinelor plasmatice pentru analiza ulterioară a lipidelor, care combină electroforeza cu cromatografia şi constă în migrarea particulelor în funcţie de vectorul rezultant al vitezei electroforetice orizontale produse de un cîmp electric orizontal, aplicat la baza ecranului şi vitezei verticale a tamponului, într-un substrat reprezentat prin hîrtie sau pulbere de celuloză. Problemele tehnice sînt rezolvate prin folosirea combinată a electrozilor spălaţi în trepte, care asigură curentul în planul orizontal şi a unui distribuitor de tampon cu scurgere lentă, care asigură dimensiunea electrocromatografică.

În funcţie de modul de aplicare a probei, se deosebesc :

— electrocromatografia continuă, cînd proba este aplicată neîntrerupt, iar fracţiunile sînt colectate pe măsura acumulării la partea inferioară a ecranului ;

— electrocromatografia în stea, cînd proba este aplicată ca un spot şi se developează un model bidimensional ;

— o formă particulară este electrocromatografia bidimensională liberă.

DETALII TEHNICE

Probele de plasmă se precolorează cu Sudan Black B şi se concentrează la 1/3 din volumul iniţial prin ultrafiltrare, folosind un filtru membrană cu mărimea porilor sub 5 mμ, sub un curent de azot cu presiunea 10 kg/cm^2.

Se aplică apoi 0,5 ml ser ca spot pe hîrtie de filtru Whatman 3 MM şi se supune migrării timp de 3 ore cu un tampon veronal de *p*H 8,6 şi forţă ionică 0,033. La electrocromatografia în stea se aplică un curent constant de 27 mA şi o tensiune iniţială de 600 volţi, care scade la 400 volţi la sfîrşitul intervalului. După migrare, hîrtia de filtru se usucă la 110°C, apoi zonele precolorate sînt tăiate şi eluate.

Modelele electroforetice ale lipoproteinelor pot fi evidenţiate prin precolorarea serului sau prin colorarea acestuia în urma migrării prin transferul colorantului nepolar din apă sau solventul organic la lipoproteine. Ambele metode de colorare rezolvă aspectele calitative, deoarece permit localizarea cu uşurinţă a zonelor corespunzătoare lipoproteinelor, dar ridică probleme de ordin cantitativ. Evaluarea fracţiunilor lipoproteice nu poate fi 100% cantitativă întrucît uscarea hîrtiei prin încălzire pentru fixarea proteinelor şi prevenirea difuziei reduce intensitatea colorării, datorită oxidării parţiale a lipidelor, iar solvenţii nepolari dizolvă parţial colorantul şi lipidele fracţiunilor lipoproteice, îndeosebi fosfolipidele, colesterolul şi acizii graşi. De asemenea, lipidele nesaturate, datorită prezenţei dublelor legături, fixează o cantitate mai mare de colorant decît lipidele saturate.

Precolorarea prezintă avantajul că evită colorarea fondului şi pierderea parţială a lipidelor în solventul organic în care se dizolvă colorantul, cu condiţia ca concentraţia finală a solventului să rămînă mică, pentru a evita denaturarea proteinelor.

Electrocromatografia evidenţiază 4 fracţiuni :

— alfa-lipoproteinele (HDL, cu densitate cuprinsă între 1,063 şi 1,210 g/ml) ;

— beta-lipoproteinele (LDL, cu densitate 1,019—1,063) ;

— alfa$_2$-lipoproteinele (VLDL, cu densitate 1,006—1,019) ;

— chilomicronii (cu densitate sub 1,006 g/ml), a căror localizare pe bandă se face printr-o metodă standardizată bazată pe compararea modelelor necolorate, precolorate şi postcolorate. Pentru aceasta se separă fracţiunile din banda umedă imediat după migrare, se extrag cu cloroform-metanol 2:1 (v/v) şi se spală cu soluţie apoasă de $CaCl_2$ pentru determinarea acizilor graşi. Lipoproteinele destinate determinării celorlalte lipide sînt separate în acelaşi mod, dar fără precolorare. Eluţia lipidelor din lipoproteinele separate prin electrocromatografie cu cloroform-metanol 2 : 1 fiind însoţită de pierderea fosfolipidelor în proporţie de 10%, se recomandă procedeul de extracţie cu cloroform-metanol — acid acetic. Fragmentele de bandă care conţin fracţiunile alfa şi beta din 2 ml plasmă sînt liofilizate 15 ore şi apoi extrase cu 100 ml cloroform-metanol 1 : 1, cu agitare continuă 15 ore. Se repetă extracţia cu acelaşi solvent timp de 2 ore, apoi urmele de fosfolipide sînt extrase cu metanol-acid acetic 99 : 1

(v/v). Se combină extractele şi se evaporă la uscat în atmosferă de azot la 40°C, iar extractul uscat se dizolvă în 15 ml cloroform-metanol 2 : 1. Calculul concentraţiilor absolute se face cu ajutorul lipoproteinelor plasmatice şi al raportului de lipide în fracţiunile alfa şi beta, evidenţiind un procent crescut (99,2%) de regăsire a lipidelor.

Valoarea datelor furnizate. Electrocromatografia este o metodă rapidă, nu prea costisitoare, avînd şi marele avantaj că produce lipoproteine pure, contaminarea fiind evitată prin migrarea acestora pe traiectorii proprii. Studiile comparative au arătat că electrocromatografia dă modele lipoproteice asemănătoare celor din sistemul Fredrickson pentru tipurile II, III şi IV de hiperlipoproteinemie, diagnosticarea tipului IV fiind chiar mai fidelă prin electrocromatografie.

IV.5.6. COMBINAREA METODELOR

Unul din obiectivele fundamentale ale laboratorului de lipidologie este acela de a furniza date calitative şi cantitative asupra lipidelor şi lipoproteinelor serice.

Acest lucru este posibil prin combinarea metodelor de explorare redate în tabelul IV.7. Deoarece semnificaţia datelor obţinute este diferită, în cap. V.3.2. se detaliază modul de aplicare în clinică a

Tabelul IV. 7

Principalele metode de explorare a lipidelor şi lipoproteinelor serice; semnificaţia şi valoarea lor în lipidologia clinică. Detalii asupra modului de aplicare şi interpretare sînt redate în capitolul V.3.2

Metode de explorare	Semnificaţii	Valoare clinică
Colesterolul seric total, trigliceridemia, lipidele serice totale, fosfolipidele serice, AGL—serici	• cuantificarea lipidelor • date calitative orientative asupra LP	— etapă în diagnosticul lipidologic — împreună cu testul chilomicronilor şi a formulelor expuse permit cuantificarea LP
Testul chilomicronilor — observarea plasmei	• date calitative orientative asupra LP	— etapă în diagnosticul lipidologic
Lipidograma calitativă →	date calitative, dar mai precise asupra LP	— etapă în diagnosticul lipidologic
Lipidograma cantitativă →	cuantificarea LP (pasibilă de erori)	— etapă superioară în diagnosticul lipidologic
Ultracentrifugarea analitică şi preparativă	cuantificarea LP — metode foarte exacte, dar foarte laborioase	— etapă finală în diagnosticul lipidologic

acestor metode și interpretarea lor. În esență este vorba de cuantificarea lipidelor și lipoproteinelor serice. Dacă obținerea datelor cantitative asupra lipidelor serice este facilă, cuantificarea L.P. implică metode laborioase (lipidograme cantitative și/sau ultracentrifugare). În eventualitatea cînd acestea nu sînt accesibile se poate recurge la utilizarea unor „artificii" de cuantificare a L.P., bazate pe dozarea prealabilă a colesterolemiei și trigliceridemiei care vor fi introduse în următoarele formule (297) :

$$\text{col. VLDL} = \frac{\text{TG serice}}{5}$$

$$\text{col. LDL} = \text{colesterolemie} - (\text{col. VLDL} + \text{col. HDL})$$

(mg%) (mg%)

Concentrația LP se exprimă prin cantitatea de colesterol (col) din lipoproteinele respective (col. VLDL col. LDL ; col. HDL) în mg%. În mod convențional col. HDL se consideră a fi 45. Noi recomandăm ca în formulă să fie introdusă valoarea col. HDL care va fi extrasă din tabelul V.9, corespunzător decadei de vîrstă respectivă.

Bazați pe aceste formule, verificate de fapt, prin metodele ultracentrifuge Fredrickson (298) propune cuantificarea rapidă a LDL prin utilizarea nomogramei redată în anexa 6.

Valoarea acestor „artificii" este, totuși, redusă pe de o parte, datorită limitelor de acuratețe și, pe de altă parte, datorită inaplicabilităților, în cazul prezenței în ser a beta-VLDL sau TG mai mari de 400 mg%.

Înainte de a încheia aceste concluzii preliminare, dorim să facem unele precizări legate de modul de exprimare a valorilor lipidelor serice. Cea mai cunoscută și răspîndită metodă este :

m Eq/l = pentru AGL
mg% = pentru fracțiile lipidice.

În ultimii ani se propune exprimarea valorilor fracțiilor lipidice :

mM/l (milimoli/litru)

Aceasta ar fi necesar deoarece diverși acizi grași care intră în compoziția lipidelor au greutăți moleculare diferite. Transformarea din mg% — mM/litru se face astfel :

$$\frac{\text{mg/100 ml} \times 10}{\text{greutatea moleculară a fracției lipidice.}}$$

De exemplu : presupunînd că în ser se dozează 150 mg% trigliceride pentru a le transforma în mM/l procedăm aşa :

$$\frac{150 \times 10}{885\,(\text{GMa TG})} = 1{,}6 \text{ mM/l}$$

Exprimarea în mM/l este întrebuinţată în special de către autorii scandinavi ; deşi are o serioasă fundamentare chimică, nu considerăm încă oportună adaptarea ei la noi în ţară.

Cuantificarea lipidelor şi lipoproteinelor serice prin metodele expuse, determină indirect reducerea importanţei celorlalte metode.

Acestea se aplică totuşi în laboratoarele de lipidologie în diferite circumstanţe.

Atunci cînd necesităţile o impun se recurge la explorări suplimentare :

— determinarea activităţii LPL, LCAT
— testul intravenos al toleranţei la grăsimi.

IV. 6. DETERMINAREA ACTIVITĂŢII LIZOLECITIN-COLESTEROL-ACILTRANSFERAZEI (52, 103, 104, 105, 205)

Deoarece lizolecitin-colesterol-aciltransferaza joacă, probabil, un rol important în transferul colesterolului din ţesuturi la ficat şi deoarece deficienţa în LCAT este însoţită de anomalii ale lipoproteinelor plasmatice cum sînt : mobilitatea electroforetică anormală, compoziţie anormală a lipidelor, este important să se studieze activitatea de esterificare a colesterolului la pacienţii cu afecţiuni de depozitare a colesterolului şi cu afecţiuni lipoproteice. LCAT catalizează transferul unui grup acil al lecitinei din poziţia 2 la hidroxilul 3 al colesterolului, reacţie în urma căreia se formează esteri de colesterol în plasmă.

Frecvent, activitatea LCAT în plasmă a fost determinată prin incubarea plasmei 1—3 zile şi evaluarea creşterii cantităţii de esteri ai colesterolului. Metoda are însă dezavantajul că determină numai intensitatea de esterificare şi nu viteza iniţială.

Activitatea LCAT se mai poate determina prin metoda Glomset (106), care constă în incubarea unui volum mic de plasmă pentru cîteva ore, cu plasmă inactivată prin temperatură ridicată şi o emulsie de colesterol liber radioactiv stabilizată cu albumină. Folosirea lipoproteinelor omoloage celor plasmatice ca substrat poate duce la rezultate eronate deoarece

viteza măsurată de formare a esterilor colesterolului plasmatic *in vivo* este în funcție de cantitatea de enzimă, cît și de natura și cantitatea lipoproteinelor circulante.

Pentru a studia esterificarea colesterolului plasmatic era necesară o metodă care să aibă în vedere atît cantitatea de LCAT, cît și substraturile corespunzătoare. Metoda Stokke și Noum (205) pare să satisfacă aceste cerințe deoarece evaluează viteza inițială de esterificare și folosește ca substrat lipoproteine endogene, dînd valori mai exacte pentru viteza de esterificare a colesterolului. Metoda constă în adăugarea unor cantități foarte mici de colesterol marcat la ser sau plasmă. Pentru a asigura o echilibrare izotopică corespunzătoare între colesterolul liber radioactiv adăugat și colesterolul liber endogen al lipoproteinelor este necesară o perioadă de preincubare în care LCAT este inhibat cu disulfid, după care enzima este reactivată prin exces de tiol.

Procedeu. Se recoltează sîngele după o noapte de post. Pentru determinări se poate folosi ser sau plasmă sanguină. Serul se obține după separarea sîngelui care a fost lăsat după recoltare în eprubete de sticlă la temperatura camerei timp de 1 1/2 oră pentru a se permite formarea cheagului. Plasma rezultă în urma recoltării sîngelui pe EDTA 2,5 mM ca anticoagulant. În ambele cazuri se practică centrifugarea pentru îndepărtarea hematiilor, după care serul sau plasma se păstrează la 0°C dacă determinările se fac în aceeași zi sau cel mult în ziua următoare, sau la —20°C cînd efectuarea dozărilor este amînată.

Lipoproteinele cu densitate mare-HDL-dovedite ca cel mai bun substrat lipoproteic pentru LCAT sînt izolate din plasmă normală prin ultracentrifugare preparativă serială după metoda Havel (118). Soluția de HDL este dializată apoi în 0,15 M NaCl — 10 mM Tris — HCl ($pH = 7, 4$) — 1 mM Na_2EDTA înainte de folosire.

Emulsia de colesterol marcat stabilizată cu albumină se obține astfel: se dizolvă 20 μCi de colesterol tritiat în benzen și se evaporă la uscat sub curent de azot. După îndepărtarea completă a benzenului se dizolvă colesterolul în 0,5 ml acetonă, iar soluția rezultată se adaugă încet, cu agitare continuă, la 5 ml soluție albumină obținută prin dizolvarea a 250 mg albumină în 5 ml tampon fosfat 0,2 M cu $pH = 7,1$. Soluția obținută se ține sub curent de azot pentru evaporarea totală a acetonei, obținîndu-se astfel emulsie de colesterol stabilă aproximativ două săptămîni la 0°C, dar care nu poate fi înghețată.

Emulsia de colesterol se poate obține și prin dizolvarea colesterolului în etanol și apoi adăugare la soluția de albumină (235), dar este mai puțin stabilă.

Reactivul Ellman (5,5-ditiobis 2-acid nitrobenzoic) 1,4 mM se obține prin dizolvare în tampon fosfat 0,2 M. Este stabil cîteva ore.

Amestecul de incubare conține 100 μl ser, 30 μl emulsie colesterol-albumină și 20 μl soluție disulfit. După perioada de preincubare se mai

adaugă 20 µl mercaptoetanol 0,1 M. Pentru incubare se folosesc eprubete de sticlă cu dop care sînt termostatate într-o baie de apă la 37°C cu agitare permanentă. Pentru oprirea reacției se adaugă 20 volume cloroform-metanol 2 : 1 (v/v). După 2 ore se filtrează amestecul, iar precipitatul rămas se extrage cu cloroform-metanol de 3 ori. Se combină filtratele și se evaporă într-o trompă de vid, după care se extrage reziduul cu 3 ml cloroform-metanol. Extractele lipidice se trec în eprubete conice de centrifugă și se evaporă solventul organic sub curent de aer. Se transferă reziduul lipidic preluat într-un volum mic de n-heptan pe plăci de silicagel H Merck, pentru efectuarea cromatografiei în strat subțire, care se developează apoi în petrol ușor (punct de fierbere 40—60°C) — dietil eter — acid acetic (85 : 15 : 3) pînă cînd frontul solventului a urcat 15—17 cm. Localizarea lipidelor se face prin tratarea plăcilor cu vapori de iodină. După evaporarea iodinei, suprafețele care conțineau colesterol și esteri de colesterol sînt colectate în fiole care conțin 5 ml lichid de scintilație (400 g-naftalen + 25 g PPO, 0,25 g POPOP, 1 925 ml dioxan, 1 925 ml xilol și 1 150 ml etanol absolut). Concentrația colesterolului liber și esterilor de colesterol este determinată prin metoda cu clorură ferică (152, 232).

Cînd dozarea colesterolului se face prin cromatografie în gaz-lichid, reziduul lipidic se dizolvă în cloroform la care s-a adăugat colesterol ca standard intern și se practică direct cromatografia.

Cantitatea de colesterol în probe se calculează făcînd raportul între suprafața vîrfului integrat al colestanului și cea a colesterolului.

Activitatea de reacție a LCAT se exprimă în moli de esteri de colesterol care iau naștere într-un litru de plasmă pe oră, sau ca procent de colesterol liber acilat pe oră.

Rezultatele obținute au demonstrat că este o metodă radioactivă de mare acuratețe și reproductibilitate.

IV.7. TESTUL TOLERANȚEI LA GRĂSIMI

IV.7.1. MODIFICĂRILE LIPIDELOR SERICE DUPĂ ÎNCĂRCAREA CU GRĂSIMI

Studiul încărcării cu grăsimi a demonstrat că diferitele tipuri de lipide determină creșterea unui anumit tip specific de chilomicroni, de exemplu : trioleina induce chilomicroni mari, sferici, în timp ce tristearina determină apariția unor chilomicroni mici, cu formă variată.

Literatura de specialitate publică date contradictorii cu privire la efectul încărcării cu grăsimi asupra nivelului colesterolului seric. Majoritatea autorilor consideră că nivelul colesterolului seric rămîne constant

sau suferă doar modificări neglijabile în urma încărcării cu lipide. Havel (118) comunică o creștere de cel puțin 15% în nivelul lipoproteinelor cu densitate foarte joasă la 88% dintre femei pe seama creșterii nivelului colesterolului, nu însă și la bărbați.

Răspunsul în nivelul lipidelor serice variază și în funcție de tipul de lipid care se folosește în experiment. Astfel, unele uleiuri au ca efect o creștere a colesterolului și fosfolipidelor serice cu 20%, în timp ce altele, dimpotrivă, induc o reducere a nivelului acestora.

Există păreri convergente în sensul că, încărcarea cu grăsimi determină o creștere în nivelul fosfolipidelor serice (10). După 60 g grăsimi se înregistrează numai o creștere slabă în nivelul fosfolipidelor la 3 ore, dar după 3,5—4 g grăsimi/kilocorp, se produce o creștere semnificativă de 18%. La 5 ore, după un prînz gras, se înregistrează o creștere în nivelul fosfolipidelor între 29 și 94%.

Kuo și colab. (133) au subliniat faptul că hipercolesterolemia, prin ea însăși, este un factor care tinde să prelungească lipemia alimentară indusă de către prînzul gras.

S-a studiat efectul diferitelor substanțe asupra încărcării cu lipide. În ce privește efectul hidraților de carbon asupra lipemiei, s-a constatat că substituirea pîinii prin carne e însoțită de o scădere a gradului lipemiei alimentare față de cel indus de carne în prezența grăsimilor. Albrink și Man (7) au obținut o reducere sau chiar o anulare a creșterii trigliceridelor serice în urma unui prînz gras prin administrarea de glucoză la 1 oră și la 30 de minute înainte și la 90 minute după încărcarea lipidică.

Este puțin cunoscut efectul proteinelor asupra lipemiei induse prin grăsimi. În experiențele lui Bang, cu grăsimi și carne se produce frecvent o creștere a gradului de lipemie alimentară față de cel obținut numai prin încărcare cu grăsimi, deși carnea singură nu induce lipemia. Cînd carnea însoțește grăsimile, maximul lipemiei alimentare se produce mai devreme și dispare mai repede decît la administrarea exclusivă de grăsimi.

Încărcarea cu grăsimi se manifestă la subiecții normali în repaus printr-o creștere de 42% în nivelul lipidelor serice, maximul fiind atins după 4 ore, în timp ce la subiecții în activitate creșterea este de numai 34% și înregistrează valoarea cea mai mare după 3 ore. Lipemia alimentară se caracterizează printr-un conținut de chilomicroni mai mare la persoanele în activitate.

Testele bazate pe încărcarea orală cu lipide nu mai sînt recomandate pentru explorarea metabolismului lipidic.

IV.7.2. TESTUL TOLERANȚEI LA GRĂSIMI (10, 35, 56, 189)

Testul de toleranță la grăsimi este folosit pentru evaluarea metabolismului lipidelor plasmatice exogene, servind astfel la detectarea anomaliilor latente ale metabolismului lipidic, la pacienții cu ateroscleroză

şi alte afecţiuni. Acest parametru este necesar în investigarea factorilor fiziologici şi patologici care afectează nivelul trigliceridelor plasmatice şi care, din punct de vedere clinic sînt implicaţi în hipertrigliceridemie.

Metoda cea mai frecvent folosită este testul de toleranţă la grăsimile orale, care constă în administrarea a diferite tipuri şi cantităţi de grăsimi pe cale orală, după care urmează determinarea, la diferite intervale de timp, a încărcării lipidice sanguine prin diferite metode (chimice, turbidimetrice, marcarea trigliceridelor cu izotopi radioactivi, determinarea vitaminei A) pentru a stabili timpul necesar metabolizării trigliceridelor plasmatice exogene.

Curbele toleranţei la grăsimile alimentare ale pacienţilor ateroscleroticí sînt mai înalte şi mai prelungite decît la subiecţii normali — considera Angervall (10). Totuşi, interpretarea fiziopatologică a curbelor de toleranţă la grăsimile orale este destul de dificilă, datorită proceselor implicate în reglarea lipemiilor alimentare ; forma curbelor e determinată nu numai de viteza de dispariţie a trigliceridelor exogene din sînge, dar şi de procesele de absorbţie diferită în tractusul gastrointestinal, de viteza de sinteză şi apariţia în sînge a chilomicronilor, ca şi intrarea în circuitul sanguin a trigliceridelor lipoproteinelor cu densitate foarte joasă. Pentru a determina resorbţia şi formarea chilomicronilor, testul de toleranţă la grăsimile orale a fost înlocuit cu testul de toleranţă la diferite emulsii de grăsimi administrate pe cale intravenoasă. Aceste emulsii trebuie să se manifeste ca înlocuitor al chilomicronilor, deci trasor al trigliceridelor plasmatice, avînd cam aceeaşi viteză de trecere prin sistemul reticuloendotelial.

Preparatul comercial Intralipid s-a dovedit a fi un trasor foarte bun pentru metabolismul chilomicronilor, deoarece are multe asemănări cu chilomicronii *in vitro* şi *in vivo* ; iar injectarea intravenoasă nu este însoţită de efecte secundare (32, 33, 35).

Procedeu. Testul se aplică dimineaţa, la pacienţi care au postit în timpul nopţii şi nu au fumat.

Se puncţionează venele antecubitale ale ambelor braţe, una pentru injectarea emulsiei de grăsimi, iar cealaltă pentru recoltarea probelor de sînge. În timpul recoltării pacienţii stau în poziţia „culcat". Acele sînt menţinute în stare de funcţionare prin spălare cu ser fiziologic (nu se foloseşte heparină). După 10—15 minute de repaus în poziţia „culcat", se recoltează o probă de sînge de 3—4 ml pentru determinarea lipidelor plasmatice de post şi a valorii blancului prin metode nefelometrice. Apoi se injectează 0,1 g Intralipid/kilocorp, într-o singură priză şi cît mai repede posibil, de obicei cu viteza de 1—3 ml emulsie/secundă, aşa încît injectarea să nu dureze mai mult de 1 minut.

Se transferă sîngele în eprubete heparinizate şi se păstrează pe o baie de gheaţă. Cronometrarea începe la jumătatea injectării recoltîndu-se probe de 3—4 ml sînge la fiecare 5 minute, timp de 30 de minute, apoi

la 40 minute, evitîndu-se venostaza. Se transferă sîngele în eprubete heparinizate, se agită prin răsturnare și se păstrează pe baie de gheață.

În locul sîngelui venos se pot recolta probe capilare din pulpa degetului ; în acest caz, se pipetează 0,1 ml sînge direct în eprubete care conțin 5 ml ser fiziologic ; se agită prin răsturnarea de mai multe ori.

Material și metodă. Se folosesc soluții standard stoc de Intralipid 0,30% obținute prin diluarea soluțiilor comerciale 10% sau 20% cu ser fiziologic. Soluția stoc este apoi diluată pentru a se obține standardurile de lucru : 0,25%, 0,20%, 0,15%, 0,10%, 0,05%, 0,025%. Pentru fiecare standard se adaugă 50 µl la 5 ml ser fiziologic, lucrîndu-se cîte 4 exemplare pentru o concentrație dată. Se efectuează un blanc al serului fiziologic.

Probele de sînge total sînt centrifugate imediat după testare la temperatura camerei într-o centrifugă unghiulară la 600 r.p.m. (60xg) timp de 10 minute. Se transferă plasma în altă eprubetă și se repetă operațiunea în aceleași condiții. Se pipetează 50 µl plasmă bine omogenizată în 5 ml ser fiziologic și se agită cu grijă, evitînd formarea bulelor. Probele pot fi citite imediat sau după un repaus de 2—3 ore la temperatura camerei, deoarece nu s-au înregistrat variații semnificative în acest interval. Înainte de citire, în micronefelometru probele se agită prin răsturnare de mai multe ori. Se sustrage valoarea blancului din valoarea fiecărei probe și se calculează valoarea medie a probelor lucrate în dublu.

În cazul probelor capilare se face o dublă centrifugare a soluției saline, ca și în cazul precedent. Supernatantul se transferă direct în eprubete care pot fi folosite în nefelometru. Se procedează în continuare ca pentru sîngele venos.

Curba standard se obține prin trasarea valorii intensității luminii dispersate față de concentrația Intralipidului și arată o relație lineară între acești 2 parametri. Pentru transformarea indicelui de dispersie a luminii în grame de Intralipid, s-a estimat factorul K după formula :

$$K = \frac{\text{g Intralipid/100 ml}}{\text{intensitatea luminii dispersate}}$$

Eliminarea din plasmă a grăsimilor injectate intravenos este caracteristică și descrisă matematic de Boberg și Carlson (34) care constată că :

— în cazul unor concentrații mari de emulsie lipidică în sînge (0,3 g Intralipid/kilocorp), eliminarea urmează cinetica de ordin zero, ceea ce înseamnă că în unitatea de timp este eliminată o cantitate constantă de trigliceride (care exprimă capacitatea maximă de îndepărtare) și corespunde constantei K_1 exprimată în µmol/l plasmă/minut ;

— la concentrații scăzute de trigliceride (0,1 g/kilocorp), eliminarea se produce în concordanță cu cineticile de prim ordin, adică o fracțiune constantă de trigliceride plasmatice părăsește plasma în unitatea de timp. Această fază este descrisă de constanta K_2 care se exprimă în % pe minut.

K_1 se referă la capacitatea totală a procesului răspunzător de transformare a trigliceridelor care poate include şi activitatea lipo-proteinlipazei, în timp ce K_2 depinde de o varietate de factori care determină disponibilităţile proceselor de transformare spre trigliceride, cum sînt: metabolismul tisular, raportul enzime/substrat.

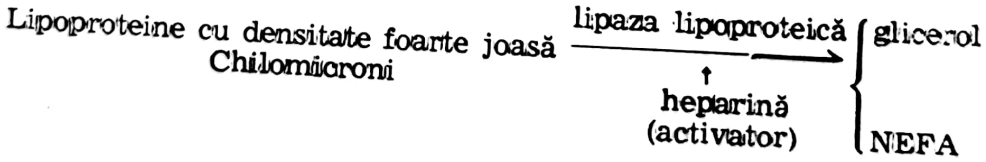
Valorile pentru toleranţa la grăsimi furnizate de probele capilare sînt în concordanţă cu cele obţinute simultan prin dozarea probelor de plasmă, ceea ce reprezintă un mare avantaj deoarece permite recoltarea la copii şi la pacienţi cu vene greu accesibile, eliminînd totodată necesitatea menţinerii acului în venă, cu toate consecinţele negative, în toată perioada recoltărilor.

Testul de toleranţă intravenoasă la grăsimi are valoare de diagnostic în bolile metabolice în care viteza de eliminare a lipidelor este alterată şi este accesibil pentru că procedeul de testare clinică este simplu, iar tehnicile de laborator relativ simple.

IV. 8. DETERMINAREA ACTIVITĂŢII LIPOPROTEINLIPAZEI (34, 55, 99, 109)

Determinarea lipoproteinlipazei se poate face în sînge sau în ţesutul adipos.

Deoarece aprecierea activităţii lipoproteinlipazei prin modificările optice ale unui amestec care conţine plasmă postheparinizată şi o emulsie de lipide este supusă influenţei a numeroşi factori, tehnicile moderne se bazează pe dozarea produşilor de lipoliză, proces care are loc conform schemei (70):



Evaluarea activităţii lipolitice se practică de obicei în plasmă postheparinizată, folosind ca substrat o emulsie de lipide Intralipid. Activitatea lipoproteinlipazei apare în curentul sanguin după injectarea intravenoasă de heparină.

Material şi metodă. Investigarea subiecţilor se face dimineaţa între orele 8—10, după o noapte de post şi 6—10 ore de somn. În acest interval se suprimă şi fumatul şi se reduce la maxim efortul fizic în dimineaţa recoltărilor. Nu se admit modificări ale dietei obişnuite în timpul investigaţiilor.

Scanned with OKEN Scanner

Prelevarea sîngelui se face prin puncționarea unei vene antecubitale, cu ajutorul unui ac de polietilen, care rămîne în venă pînă la sfîrșitul recoltărilor și este menținut în stare de funcționare prin spălare cu ser fiziologic.

Se recoltează o probă de sînge „à jeun" pentru determinarea triglicеridelor, colesterolului și pentru evaluarea lipoproteinelor prin electroforeză și ultracentrifugare, după care se administrează intravenos 100 U.I. heparină/kilocorp.

La intervale de 5 și 40 de minute după injectarea heparinei se recoltează cîte 9 ml sînge necesar pentru determinarea activității lipoproteinlipazei. Se transferă apoi probele de sînge în eprubete de sticlă care conțin 1 ml citrat trisodic 0,1 M și se pun imediat în baie de gheață. Se centrifughează la 3 500 r.p.m. într-o centrifugă cu răcire la 4°C. Se separă plasma de hematii.

Dacă nu este posibil să se facă imediat dozările se conservă plasma prin înghețare pînă la 2 luni, fără ca activitatea lipoproteinlipazei să se modifice semnificativ.

Amestecul substrat conține albumină serică umană liofilizată, glicerol liber, emulsie Intralipid și tampon amoniu. Din 3 volume amestec substrat și 1 volum plasmă postheparinizată se obține mediul de incubare.

La intervale de timp de 30, 40, 50 și 60 de minute după începerea incubării, se determină concentrația glicerolului în mediul de incubare. Pentru o activitate plasmatică scăzută a lipoproteinlipazei se recomandă repetarea dozărilor și efectuarea determinărilor la intervale de timp mai mari, în general 60, 80, 100 și 120 de minute.

Pentru determinarea glicerolului se folosesc aliquote de 0,3 ml mediu de incubare, care se transferă în eprubeta de sticlă ce conține 3 ml izopropanol. După agitare energică, precipitatul proteic este centrifugat și se depune. Se decantează supernatantul în eprubete și se determină glicerolul după una dintre metodele menționate la paragraful corespunzător.

Activitatea lipoproteinlipazei se exprimă ca glicerol liberat în unitatea de timp, în etapa lineară a eliberării de glicerol.

Cînd se studiază activitatea lipoproteinlipazei după diferite doze de heparină : 1, 5, 10, 100 și 200 UI/kilocorp, se poate folosi sînge arterial după dozele mici de heparină (1 UI/kilocorp) și sînge venos pentru dozele mari de heparină.

În cazul injectării unor doze de 1 UI/kilocorp heparină, recoltările sîngelui se fac la 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12 și 15 minute după momentul zero ; iar pentru doze de heparină mai mari, se recoltează probe suplimentare la 20, 40 și 60 de minute.

Metoda are mare reproductibilitate și specificitate cînd condițiile de lucru sînt standardizate. În plus, metoda prezintă marele avantaj că este ușoară și rapidă.

Scanned with OKEN Scanner

REZUMAT

Explorarea lipidelor şi lipoproteinelor în laboratorul clinic a fost profund reevaluată în ultimii ani, ca o consecinţă a progreselor înregistrate în acest domeniu.

Pentru a aprecia exact lipidele şi lipoproteinele plasmatice, este necesară respectarea unor condiţii în momentul recoltării cît şi standardizarea metodelor de explorare.

Se cunosc multe metode pentru determinarea lipidelor serice şi care sînt descrise în detaliu. Astfel, se analizează determinarea colesterolului, trigliceridelor, fosfolipidelor, lipidelor totale, cît şi a acizilor graşi liberi. Explorarea lipoproteinelor serice se face prin metode electroforetice pe diferite medii, calitative şi cantitative, cît şi prin metode ultracentrifugale, nefelometrice, imunochimice şi de precipitare.

O analiză completă a metabolismului lipidelor şi lipoproteinelor presupune determinarea activităţii LPL, LCAT, efectuarea testului intravenos la toleranţa la grăsimi, cît şi explorarea lipolizei.

Scanned with OKEN Scanner

V. NOSOLOGIA STĂRILOR HIPERLIPIDEMIANTE-HIPERLIPOPROTEINEMIANTE

V. 1 INTRODUCERE

Sistematizarea stărilor hiperlipidemice (HL) şi hiperlipoproteinemice (HLP) a fost şi este încă tributară nivelului deficitar al gnoseologiei acestui sector al patologiei umane. Urmărind etapele principale ale istoriei lipidologiei, vom fi impresionaţi de abundenţa haotică a încercărilor de definire şi clasificare a acestor tulburări metabolice. Aproape fiecare autor, care aborda problematica HL, credea că este necesar să introducă o nouă sistematizare, ajungîndu-se astfel ca pentru caracterizarea etapei de pînă la jumătatea deceniului al VII-lea al secolului nostru, calificativul de haos să fie cel mai indicat. Cauza este insuficienta cunoaştere a biochimiei lipidelor, lipoproteinelor şi, mai ales, lipsa unui concept integrativ asupra patologiei de transport a acestor substanţe. Datele rămase din acea perioadă au astăzi mai mult valoare istorică, dar reflectă în mod neîndoielnic „căutările" lumii medicale, în contextul general şi îngrijorător al creşterii morbidităţii şi mortalităţii prin arterioscleroză.

În 1965, şi apoi în 1967, un colectiv de lipidologi de la Institutul Naţional de Cardiologie şi Pneumologie din Bethesda (S.U.A.), condus de D. S. Fredrickson şi R. Levy şi aparţinînd Institutului Naţional pentru Sănătate (NIH), enunţa conceptul hiperlipoproteinemiilor (1, 2). El se bazează pe faptul unanim recunoscut că unica formă de transport al lipidelor în sînge sînt lipoproteinele serice. În acest context, este logic să vorbim de hiperlipoproteinemie şi nu de hiperlipemie. Este vorba nu numai de o schimbare de terminologie, dar şi de conţinut a noţiunii.

Şi asta întrucît, hiperlipidemia reflectă doar creşterea nivelului seric al colesterolului şi trigliceridelor, sub forma hipercolesterolemiilor, hipertrigliceridemiilor sau a hiperlipidemiilor mixte (hipercolesterolemie + hipertrigliceridemie) (3), spre deosebire de hiperlipoproteinemia care reprezintă modificările calitative şi mai ales cantitative ale lipoproteinelor serice, însoţite aproape întotdeauna şi de HL (3).

Apare evidentă, incumbarea noţiunii de HL în cea de HLP. Clasificarea tulburărilor lipidelor serice, bazată pe anomaliile lipoproteice şi

Scanned with OKEN Scanner

nu numai ale lipidelor înseşi, are în felul acesta o solidă argumentaţie biochimică.

În cele ce urmează, vom detalia :

— clasificarea stărilor HL-HLP ;

— principiile generale de diagnostic al stărilor HL-HLP ;

— mecanismele generale hiperlipidemiante şi hiperlipoproteinemiante.

V. 2. CLASIFICAREA STĂRILOR HIPERLIPIDEMICE-HIPERLIPOPROTEINEMICE

Conceptul tulburărilor de transport al lipidelor şi lipoproteinelor, materializate sub forma celor 5 tipuri de HLP descrise de Fredrickson şi colab. (1, 2), a produs în lumea medicală reacţiile cele mai felurite, mergînd de la acceptare totală, pînă la eludare (4). Preluînd sub raport teoretic această clasificare încă din anii 1968, 1969 (5, 6) şi apoi aplicînd-o la studiul HLP din diabetul zaharat (7, 8) afirmăm alături de autori, convingerea noastră asupra caracterului ei temporar, nu datorită inconsistenţei sale ci a faptelor ulterioare care o vor completa. Într-adevăr, deoarece, clasificarea lui Fredrickson era în fond o problemă, în primul rînd de concepţie, rol al unei îndelungate şi profunde cercetări, este logic ca ei să-i fie opuse alte concepţii bazate pe alte fapte (4). Tranşînd creator preluarea noilor achiziţii în acest domeniu, O.M.S. reuneşte, la Geneva, în luna iunie 1970, o parte din elita mondială a lipidologilor, pentru stabilirea unei clasificări unitare a stărilor HL-HLP (3). Se convine aici (9) asupra unei terminologii şi clasificări care au la bază conceptul HLP propus cu 5 ani mai devreme de către Fredrickson şi colab. Vom reproduce datele esenţiale ale acestui memorandum, deoarece s-a dovedit a avea o solidă bază biochimică şi o mare aplicabilitate practică. Se confirmă, astfel, aserţiunea mai veche a lui R. Levine (10) :

„Clasificarea de dragul clasificării este desigur semn de pedanterie, dar dacă scopul ei este să atragă atenţia asupra diviziunilor naturale ale unui domeniu de cercetare şi să le fixeze în minte, ea poate fi iertată şi se poate dovedi chiar utilă".

Necesitatea adoptării unui sistem unitar de clasificare a stărilor HL-HLP apare expusă în preambulul memorandumului (3) :

1. din punct de vedere diagnostic : o clasificare unitară este un ajutor în diagnostic şi evaluarea prognosticului ;

2. din punct de vedere terapeutic, este o indicaţie mai raţională de tratament şi apreciere a eficacităţii sale ;

3. sub raport epidemiologic, oferă o bază de cercetare şi apreciere a penetraţiei tulburărilor metabolismului lipidic în diferite grupuri de populaţie ;

4. din punct de vedere genetic, permite o mai bună cunoaştere a mutaţiilor responsabile de HLP şi a modului lor de transmisie ;
5. din punct de vedere etiologic, oferă o bază mai raţională pentru evidenţierea diferitelor cauze şi mecanisme ale HLP.

Aceste necesităţi trebuie corelate cu marele imperativ al studiilor de lipidologie în patologia umană, rezultate din intima corelaţie lipide-lipoproteine-arterioscleroză, filiaţie dovedită indubitabil pe mai multe planuri : clinic, experimental, patogenetic şi epidemiologic.

V.2.1. CLASIFICAREA PROPUSĂ DE O.M.S.

Baza biochimică a clasificării O.M.S. — Fredrickson este oferită de preluarea conceptului lui Fredrickson şi colab. asupra tulburărilor transportului plasmatic al lipidelor sub forma lipoproteinelor. În acest context, definiţia completă a HL şi HLP se face astfel :

a. *Hiperlipidemie.* Creşterea concentraţiei serice a colesterolului şi trigliceridelor este etapa iniţială de diagnostic atît a stărilor HL, cît şi a celor HLP. Dat fiind corespondenţa lipide-lipoproteine serice sistematizarea HL se face astfel (3) :

— creşterea concentraţiei colesterolului seric, alături de o trigliceridemie normală, corespunde denumirii clasice de *„hipercolesterolemie pură"*, avînd ca substrat hiperbeta-lipoproteinemia (hiper LDL) ;

— creşterea izolată a trigliceridelor serice corespunde *„hiperchilomicronemiei pure"* sau hiperprebeta-lipoproteinemie" (hiper VLDL) ;

— exacerbarea concomitentă a colesterolului şi trigliceridelor serice poate fi întîlnită în toate formele de HLP, cu excepţia hiperbeta-lipoproteinemiei pure.

Uneori, se utilizează calcularea raportului colesterol/trigliceride sau colesterol fosfolipide (pentru aprecierea alfa-lipoproteinelor), dar, fără o valoare diagnostică precisă.

b) *Hiperlipoproteinemia.* Determinarea tipului lipoproteinic seric stă la baza clasificării HLP, alături de determinarea lipidelor serice. Iniţial, Fredrickson şi colab. (1, 2) au propus defalcarea hiperlipoproteinemiilor în 5 tipuri, numerotate de la I—V şi notate prin cifre romane. Memorandumul O.M.S. subdivizează tipul II în II a şi II b, rezultînd astfel 6 tipuri de HLP (tabelul V.1.).

Tabelul V.1

Tipurile majore de hiperlipoproteinemii (Memorandumul O.M.S. [3])

Tipul	Chilomicroni	LDL β-Lp	VLDL pre-β-Lp	BBLDL β-Lp-flotante
I	+			
II a		+		
II b		+	+	
III				+
IV			+	
V	+		+	

Tipul I — caracterizat prin prezența chilomicronilor alături de VLDL normale sau discret crescute.

Tipul II a — se caracterizează prin creșterea LDL, VLDL sînt în concentrație normală.

Tipul II b — se caracterizează prin creșterea concentrației atît a LDL, cît și a VLDL.

Tipul III — caracterizat prin prezența unei VLDL anormale, cu conținut crescut de colesterol și migrare electroforetică anormală, de unde denumirea de „beta-VLDL", „beta-lipoproteina flotantă" sau LDL.

Tipul IV — definit prin creșterea VLDL, LDL în concentrație normală, chilomicronii fiind absenți.

Tipul V — caracterizat prin creșterea VLDL în prezența chilomicronilor.

Precizăm însă, că acestea sînt numai criterii de *clasificare* ale HLP, care nu trebuie confundate cu *criteriile de diagnostic* ale tipurilor de HLP.

Se impun cîteva sublinieri (3) :

— tipurile de HLP, nu numai că nu sînt echivalente cu o singură boală, dar fiecare din ele are mai multe cauze ;

— multe (95%) din formele de HL au corespondență în HLP ;

— unele teste au valoare diagnostică pentru definirea unui tip HLP ;

— tipul lipoproteinic variază intraindividual în funcție de tratament, factorii de mediu etc. ;

— determinarea colesterolului și trigliceridelor serice în vederea diagnosticului de HL, etapă preliminară a diagnosticului și clasificării HLP, necesită standardizarea metodologică ;

— clasificarea de mai sus este provizorie (9) ; se așteaptă ca, prin îmbunătățirea mijloacelor de investigare a lipidelor și mai ales a lipoproteinelor plasmatice, să asistăm la subdivizarea unor tipuri majore de HLP.

În sprijinul acestei ultime observații prezentăm discuțiile care au avut loc la întrunirea de la Geneva asupra divizării tipului II. Fără îndoială că aceasta era o necesitate. Este un adevărat mister cum o astfel de particularitate a „scăpat" clasificării originale a lui FREDRICKSON. Controversele s-au ivit în momentul translației acestui tip de HL mixtă în HLP. Existau două alternative :

— defalcarea tipului I în II a și II b ;

— sau introducerea tipului VI, format din sumarea tipului II (hiperbeta-LP) + tipul IV (hiperprebeta-LP), asemănător cu tipul V (formată din tipul I + tipul IV). Această ultimă idee, propusă de Carlson (11), a fost abandonată în cele din urmă în favoarea primei alternative. În sprijinul acestei atitudini se aduce existența la membrii aceleiași familii atît a „HLP II a", cît și „II b" (9, 11), dovedindu-se astfel o posibilă filiație între cele două tipuri. Argumentația nu ni se pare fără echivoc, deoarece un fenomen asemănător este diferit interpretat în cazul HLP tip IV și tip V, ambele posibil de evidențiat în cadrul aceleiași familii, avînd o filiație patogenică certă și care își păstrează „independența tipologică".

Scanned with OKEN Scanner

Recent, Brown şi colab. (12) reiau această problemă, propunînd introducerea HLP tip VI corespunzătoare unor forme de HL mixtă. Ideea se susţine prin prezenţa HL crescută, în asociaţie cu complicaţiile cardiovasculare, motiv temeinic pentru a se individualiza. Carlson (de data aceasta partizan al memorandumului) răspunde prompt printr-o scrisoare către cititori (11) în care, pe lîngă înalta spiritualitate emanată încă din titlul cu aluzie Shakespeariană („II b or not II b"), conchide astfel într-un final de mare efect : „...The answer to the question" II b or not II b" is that II b is still to be" (11). Deoarece este vorba de o schimbare de nomenclatură, fără a avea ca substrat afectarea conţinutului noţiunii, credem că această controversă, cu evidentă notă semantică, este inutilă, cel puţin în momentul actual, în care clasificarea O.M.S. — Fredrickson rezistă solicitărilor practice, diagnostice, epidemiologice şi terapeutice.

În clasificarea stărilor HL—HLP, datele clinice au o valoare „adiţională" (3).

Sistematizarea gnoseologică a HLP trebuie completată cu precizările de ordin etiologic (3). Din acest punct de vedere, fiecare din cele 6 tipuri de HLP se împarte în două categorii :

— forme secundare unor boli cunoscute (hipotiroidism, diabet zaharat insulino-dependent necontrolat, sindrom nefrotic, obstrucţii biliare, pancreatită, disglobulinemie, boli autoimune) ;

— forme primare, condiţionate fie genetic (HLP familiale), fie de factori cîştigaţi, dintre care mai probabil sînt :

a) alimentaţia (hiperlipidică, hipersucrată, inclusiv abuzul de alcool) ;

b) medicamentele (esterogenii din anticoncepţionale sau steroizii).

Raţiuni de ordin practic l-au determinat pe Fredrickson (13) să introducă în grupul HLP primare formele de HLP din diabetul zaharat cetorezistent, pancreatite sau obezitate. Noi, subscriem la această orientare.

Literatura ultimilor ani abundă în lucrări care vin să confirme acceptarea conceptului HLP şi a clasificării O.M.S. Prelucrarea lor se va face treptat în cursul expunerii.

Şi la noi în ţară, preocupările în domeniul taxonomiei HL—HLP au fost stimulate de conceptul lui Fredrickson (4—7), (14—20). Preluarea lui constituie, în cele mai multe cazuri, punctul de plecare al cercetărilor epidemiologice vizînd HLP şi ateroscleroza.

O dovadă grăitoare asupra caracterului temporar al actualei clasificări a HL—HLP (OMS — Fredrickson) este adusă de cercetările foarte recente ale lui Carlson (40). Prin determinarea colesterolului şi trigliceridelor în fiecare fracţie majoră lipoproteică (LDL, VLDL, HDL) se evidenţiază anomalii lipidice şi lipoproteice care nu îşi au corespondenţa în clasificarea OMS — Fredrickson. Se descrie astfel :

- LDL hipertrigliceridemie (creşterea TG serice, datorită creşterii concentraţiei lor în LDL) ;
- VLDL hipercolesterolemie (creşterea colesterolului seric datorată creşterii concentraţiei lui în VLDL) ;
- HDL hipertrigliceridemie (creşterea TG serice, datorată creşterii concentraţiei lor în HDL).

Scanned with OKEN Scanner

Avînd în vedere importanța deosebită a acestor observații, nu este exclus ca în viitor, să asistăm la reconsiderarea taxonomică a HL—HLP.

V.2.2. ALTE CLASIFICĂRI

Reproducem rezumativ datele esențiale ale altor clasificări ale stărilor HL—HLP.

— *Clasificarea propusă de J. L. De Gennes* (21, 22), bazată pe criteriile redate în tabelul V.2, se referă la HL idiopatice (HLP primare familiale din nomenclatura O.M.S. — Fredrickson).

— *Clasificarea lui KUO (23) și Bassett* se bazează tot pe variația colesterolului și trigliceridelor serice. Caracterele ei esențiale sînt reproduse în tabelul V.3. Ea se referă la HL primare care ar corespunde HLP primare familiale în nomenclatura O.M.S. — Fredrickson.

— *Clasificarea lui Harlan și colab.* (24) (tabelul V.4.), care cuprinde HL primare, secundare și multifactoriale.

— *Clasificarea lui Billimoria și colab.* (25). Aceasta se bazează pe următoarele operațiuni preliminare :

a) se determină acizii grași esterificați în ser, concomitent cu indicele relativ de culoare (IRC), apreciat din benzile electroforetice beta și prebeta (electroforeza pe hîrtie) ;

b) se calculează indicele acizilor grași esterificați (IAGE), conform formulei :

$$\text{IAGE} = \frac{\text{IRC}\,\%}{100} \times \text{IACE mg\%}$$

Limitele stabilite de autori la martori sînt :

— pentru banda beta : 180 (martori între 40 și 70 ani)
140 (martori între 19 și 39 ani)

— pentru banda prebeta : 120 (martori între 40 și 70 ani)
70 (martori între 19 și 39 ani).

În funcție de mărimea IAGE se propun următoarele clase de hiperlipoproteinemii :

— clasa B : creșterea beta-LP
— clasa C : creșterea chilomicronilor
— clasa „broad beta-LP" : creșterea beta-VLDL
— clasa P : hiperprebeta-LP
— clasa BP : hiperbeta + hiperprebeta-LP.
— clasa PB : hiperprebeta-LP + hiperbeta-LP
— clasa CPB : hiperchilomicronemie + hiperprebeta-LP.

În tabelul V.5. este redată corespondența acestor clase în tipurile HLP din clasificarea O.M.S. — Fredrickson. Avantajele acestei sistematizări ar rezulta din :

— decelarea HLP minime ;
— introducerea clasei BP, fără corespondență în clasificarea O.M.S.—Fredrickson ;
— eliminarea determinării colesterolului și trigliceridelor serice.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul V.2

Clasificarea hiperlipidemiilor idiopatice propusă de J. L. de Gennes (21)

Corespondența în clasificarea Fredrickson	Clasificarea propusă. Criteriile formulei chimice	Aspectul serului
Tip II	A. *Hipercolesterolemii esențiale (HCE)* Criterii : $\frac{CT\uparrow}{(N \text{ sau } \nearrow)} \geqslant 2{,}5$ 1. Forma hipermajoră : xantomatoze cutaneo-tendinoasă monstruoasă (CT ≈ 7—12 g ‰) 2. Forma majoră : xantomatoza tendinoasă hipercolesterolemică familială (CT ≃ 3,5—7 g ‰) (X.T.H.F.) 3. Forma minoră : expresie permanentă ; și pur biologică și ocazională cardiovasculară (HCE) (CT ≈ 2,6—4 g‰)	Clar
Tip I Tip IV (sau V)	B. *Hipergliceridemii majore* Criterii : $\frac{TG\uparrow}{CT\ (N \text{ sau } \uparrow)} > 2{,}5$ 1. Hiperchilomicronemia exogenă — lipidodependentă (cu activitatea (PL ↓) 2. Hiperlipomicronemii endogene dependente de : glucide, alcool, supraalimentație (lipidică sau calorică) (cu activitate LPL : N)	Lactescent
Tip III sau (II + IV)	C. *Hiperlipidemii mixte* Criterii : CT ↑ și TG ↑ sau $\frac{CT\uparrow}{TG\uparrow} \sim \frac{TG\uparrow}{CT\uparrow} < 2{,}5$ 1. Forma majoră ; cu sau fără xantomatoză tuberoasă pură (sau sindromul pliurilor palmare — Fredrickson) 2. Forma minoră : expresie permanentă pur biologică și ocazional cardiovascular.	Opalescent

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul V. 3

Clasificarea hiperlipidemiilor primare propusă de KUO și Bassett (23)

I — *Hipercolesterolemie*

— hipercolesterolemie familială esențială

II — *Hipergliceridemii*

— induse de lipide
— induse de glucide
— induse de lipide și glucide

Tabelul V.4

Clasificarea hiperlipidemiilor propusă de Harlan (24)

I. *Hiperlipidemii familiale* (boală determinată genetic, caracterizată prin creșterea uneia sau mai multor lipide)
   A. Hipercolesterolemia familială (tipul II) *: C↑ ; TG = N
   B. Hipertrigliceridemia familială : (TG ↗ predominant) C = N sau ↗
      1. Hipertrigliceridemia exogenă (lipidică indusă — tip I *, cu activitate LPL scăzută sau absentă)
      2. Hipertrigliceridemia endogenă (carbohidrat indusă — tip IV *)
      3. Combinarea 1+2 — tipul V *
   C. Hiperlipidemia ,,intermediară'' tip III*
      creșterea colesterolului și triglicer idelor fără predominanța vreunei fracțiuni.

II. *Hiperlipidemii secundare*

   A. Sindromul hepatic
   B. Mixedemul
   C. Ciroza biliară xantomatoasă și obstrucția biliară cronică
   D. Glicogenozele
   E. Diabetul zaharat
   F. Foamea și ingestia de alcool

III. *Hiperlipidemia multifactorială*

* Referința la clasificarea hiperlipoproteinemiilor propusă de Fredrickson și Lees (1).
LPL = lipoproteinlipază.
C = colesterol; TG = trigliceride; N = Normal ↑ = crescut.

Tabelul V.5

Diferențierea claselor hiperlipoproteinice propusă de Billimoria și colab. (25); corespondența lor în clasificarea O.M.S. — Fredrickson (3)

Clasa	Fracții lipoproteinice			pre-β	Tipul Fredrickson O-M-S.	Observații
	Chilo	β	Pre-β	β		
C	+	N	N		I	
B	−	+	N		II A	
Broad β-LP	−	Broad beta	N		III	Necesită ultracenrif.
P	−	N	+		IV	
BP	−	++	+	<0,5	II B	
PB	−	+	++	>0,5	−	
CPB	+	+	+		V	

Scanned with OKEN Scanner

— *Clasificarea lui Strisower şi colab.* (26) se bazează pe determinarea tipului lipoproteinic plasmatic, observaţia serului şi tipul xantomelor. În funcţie de variaţia acestor parametri se propun 5 grupe de HLP, redate în tabelul V.6., alături de corespondenţa lor în clasificarea lui Fredrickson (2).

Tabelul V.6

Clasificarea anomaliilor lipoproteinice propusă de Stone, Thorp şi colab. (27)

Grupul HLP	Aspectul serului	Concentraţia lipoproteinelor (mg %)				Tipul de xantom caracteristic	Corespondenţa în clasificarea lui Fredrickson (2)
		Sf: 0–12	Sf: 12–20	Sf: 20–100	Sf: 100–400		
1	Clar	foarte scăzute	N– ↑	N– ↓	↓	tendinoase	tip II
2	Clar	↑	N– ↑	N– ↓	↓	–	tip II
3	Cu turbiditate	foarte scăzute	↑	↑	↑	tuberoase	tip III
4	Lăptos sau cu turbiditate	↓	N– ↑	foarte crescute	foarte crescute	–	tip IV şi V
5	Clar sau cu discretă turbiditate	moderat crescute	N– ↑	↑	↑	–	–

— *Clasificarea lui Stone, Thorp şi colab.* (27) în esenţă se bazează tot pe variaţia lipoproteinelor serice, dar determinate cu ajutorul altor metode (indicele de lumină difuzată după filtrare) şi definite astfel :

— particule S, corespunzătoare beta-LP ;

— particule M, corespunzătoare prebeta-LP ;

— particule L, corespunzătoare chilomicronilor.

În tabelul V.7., sînt redate tipurile anomaliilor lipoproteinice şi criteriile lor de evidenţiere, alături de corespondenţa în clasificarea Fredrickson (2).

Tabelul V.7

Clasificarea anomaliilor lipoproteinice propusă de Stone, Thorp şi colab. (27)

Criteriile anomaliei			Tipul anomaliei	Corespondenţa în clasificarea lui Fredrickson – 2
S	M	L		
++	–	–	S	tip II
++	+	–	S M	tip II
+	++	–	M S	fără corespondenţă
–	++	–	M	tip IV
–	++	+	M L	tip IV sau V
+	++	+	MSL	fără corespondenţă
–	+	++	L M	tip V sau I
–	–	++	L	tip I

Nu intenționăm să comentăm aceste clasificări. Expunerea lor s-a făcut numai cu scop orientativ.

În cele ce urmează, vom analiza etapele diagnosticului HL—HLP, adoptînd integral clasificarea O.M.S. — FREDRICKSON.

V.3. ETAPELE DIAGNOSTICULUI STĂRILOR HIPERLIPIDEMICE-HIPERLIPOPROTEINEMICE

Diagnosticul stărilor HL—HLP se efectuează în mai multe etape care sînt redate în fig. V.1., împreună cu complexul „decizie-acțiune" profilactico-terapeutică, declanșate de depistarea unui bolnav hiperlipidemic-hiperlipoproteinemic.

Depistarea acestei anomalii poate fi întîmplătoare sau ca rezultantă a unei acțiuni organizate. De regulă se evidențiază HL. Uneori, datele clinice sînt cele care ne orientează diagnosticul : stigmatele cutanate, obezitatea, tulburările cardio-vasculare etc.

Oricum, în funcție de vîrsta bolnavului, acesta va fi în observație ulterioară, fie a pediatrului, fie a nutriționistului, care va efectua examenul clinic complet.

În mod obligatoriu, ei se vor adresa biochimistului cu ajutorul căruia se va stabili diagnosticul tipului HLP.

Este necesar ca, în continuare, să fie solicitată opinia altor specialiști, care vor decide, împreună cu observatorii inițiali, prezența în special a complicațiilor vasculare, a altor organopatii sau a unei eventuale boli de bază, ca și cauza tulburărilor metabolismului lipidic.

Gruparea datelor de pînă acum justifică și induce complexul „decizie-acțiune" format din :

a) act terapeutic pentru boala de bază ;

b) profilaxia primară a tulburărilor metabolismului lipidic la ceilalți membri ai familiei ;

c) profilaxia secundară și terțiară a bolii în cazul bolnavului în speță. Aceasta implică stabilirea unei strategii terapeutice și dispensarizarea sa permanentă în timpul căreia au loc controale clinico-umorale periodice, pentru evaluarea stării organo-biochimice, sau o eventuală reorientare terapeutică.

Eficiența complexului „decizie-acțiune" profilactico-terapeutică poate fi apreciată prin existența a cel puțin cinci posibilități de evoluție a bolnavului :

1) practic sănătos, dar cu un potențial factor de risc HL—HLP sau factor de risc vascular ;

2) condiționat sănătos ; dependent de raționalizarea vieții, alimentației dietetice și/sau medicație ;

3) apariția accidentelor vasculare ;

4) scurtarea duratei de viață ;

5) deces.

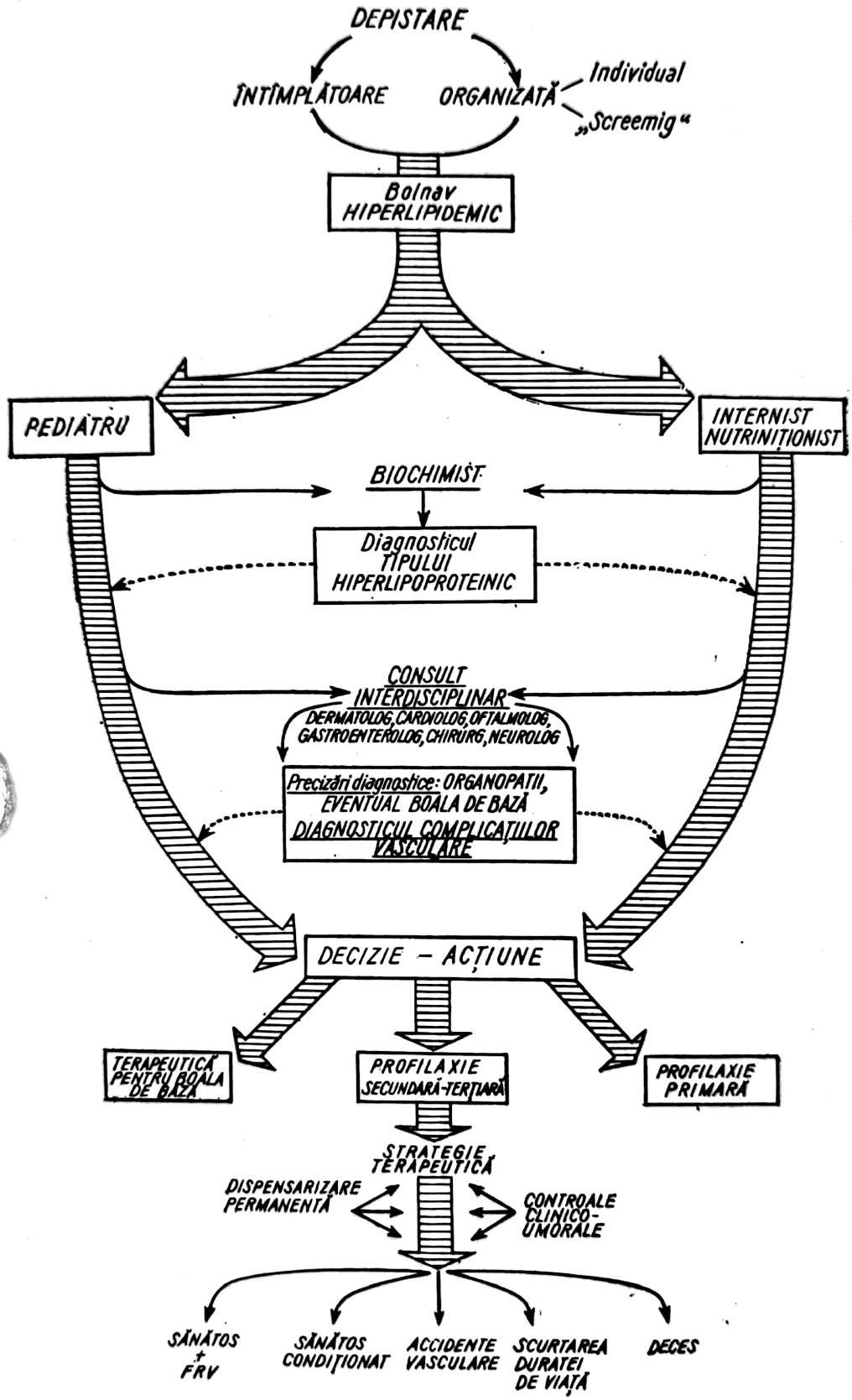


Fig. V.1. — Prospectarea etapelor diagnostice, profilactice și terapeutice în cazul depistării unui bolnav cu hiperlipoproteinemie (FRV= factor de risc vascular)

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul V.8

Metodologia generală a diagnosticului stărilor hiperlipidemiante — hiperlipoproteinemiante

A. *EXAMENUL CLINIC*

I. Antecedentele eredocolaterale: pe { orizontală / și / verticală } vizînd
- anomaliile lipidice
- diabetul zaharat
- obezitatea
- boli cardiovasculare
- moarte subită
- gută
- pancreatite

II. Antecedente personale:
- ruta profesională
- ancheta alimentară, inclusiv consumul de alcool și cafea
- alte obiceiuri: tutun, regim de activitate fizică
- ciclul menstrual, eventual patologie perinatală
- boli hiperlipidemiante
- tratamente efectuate

III. Istoricul bolii:
- circumstanțe de evidențiere a tulburărilor metabolismului lipidic
- tulburări funcționale
  - cardiovasculare
  - nervoase
  - digestive
  - reumatismale

IV. Examenul fizic
- constituție endocrinopată
- obezitate
- stigmate dermatologice
- aparatul cardiovascular, tensiunea arterială
- ficat, vezică biliară, splină, pancreas
- sistemul nervos central

B. *EXAMINĂRI PARACLINICE*

I. Explorarea lipidelor și lipoproteinelor serice

1. Diagnosticul hiperlipidemiei
- regulile lui Fredrickson
- controlul exactității
- excluderea HL secundare
- conversiunea HL primare ⟶ ⟶ HLP primare
  - metoda Fredrickson
  - „ Schatz
  - „ Havel

2. Diagnosticul hiperlipoproteinemiei (tipurile I—V)
- criteriile O.M.S. — Fredrickson;
- alte metode de diagnostic al HLP
  - nomograma Harlan
  - codul Binar

3. Explorări vizînd metabolismul lipidic și hipoproteinic

II. Explorarea metabolismului glucidic și proteic

III. Explorarea funcțională pe aparate
- Scop
  - diagnosticul organopatiilor, starea aparatului cardiovascular
  - diagnosticul unei eventuale boli hiperlipidemiante
- Metodologie orientativă: Examenul oftalmologic, radiocirculograma cerebrală ECG repaus + testul Master, oscilometrie, alte metode pentru explorarea sindromului de ischemie periferică, arteriografii selective, inclusiv coronarografii, radiografii abdominale (calcificări arteriale sau ale pancreasului

C. *Consult interdisciplinar*

D. Teste dietetice

E. *Concluzii diagnostice*

Scanned with OKEN Scanner

Aceasta este orientarea generală în faţa unui bolnav cu HL—HLP. Etapele descrise mai sus vor fi detaliate în cadrul capitolelor respective. În cele ce urmează vom enunţa metodologia generală de diagnostic a stărilor HL—HLP, aşa cum este redată în tabelul V.8. Ea se referă la :

— examenul clinic al bolnavului ;
— explorări paraclinice ;
— consultul interdisciplinar ;
— eventuale probe dietetice.

V.3.1. EXAMENUL CLINIC AL BOLNAVULUI

Examenul clinic al unui bolnav cu HL—HLP urmează regulile clasice cu particularizarea impusă de caracterele acestei anomalii metabolice.

A. ANTECEDENTELE EREDO-COLATERALE

Acestea vor fi investigate cu mare atenţie „pe verticală" (cel puţin trei generaţii) şi „pe orizontală". Pedigriul va urmări :

— anomaliile lipidice obiective care, de regulă, se realizează numai prospectiv ;
— diabetul zaharat şi obezitatea ;
— bolile cardio-vasculare sau decesele subite ;
— pancreatitele, litiaza biliară sau tulburările digestive severe, neetichetate ;
— guta.

B. ANTECEDENTELE PERSONALE

Acestea furnizează de regulă date extrem de preţioase, în special pentru diferenţierea HL-HLP primare de cele secundare. În acest sens se va analiza :

a. *Ruta profesională cu referinţe* mai ales la stările stressante prelungite şi sedentarism.

b. *Ancheta alimentară,* inclusiv consumul de alcool şi cafea. Datele culese vor fi :

— *calitative* — estimarea procentuală a compoziţiei principalilor factori alimentari, cu referinţă directă la zaharuri fine (gem, dulceaţă, ciocolată, bomboane), grăsimi de origine animală (unt, slănină, şuncă), tipul hidraţilor de carbon şi lipidelor consumate de preferinţă ;
— *cantitative* — calcularea aportului caloric corelativ cu necesarul caloric ; aprecierea aportului unui eventual excedent caloric.

Investigarea se va referi, în continuare, la consumul de alcool :

— tipul şi cantitatea băuturilor alcoolice ;
— obiceiul de consum al alcoolului raportat la alimentaţie (înainte sau după masă), sau ritmul de consum (cantităţi mici consumate zilnic, sau cantităţi mari consumate la intervale îndepărtate). Se va calcula aportul caloric rezultat din consumul de alcool.

Scanned with OKEN Scanner

Consumul de cafea va fi analizat, de regulă, sub aspect cantitativ (număr de cafele/zi sau mai corect număr de linguriţe de cafea pe zi) şi calitativ (tipul cafelei consumate) : cafea naturală, produse solubilizabile. Se va nota :

— modalitatea de îndulcire a cafelei (zahăr sau zaharină, primul intrînd în calculul aportului caloric) ;

— obiceiul de consum, în special legat de alimentaţie (înainte sau după masă).

c. *Alte obiceiuri referitoare la :*

— fumat (tutun de pipă, ţigări, număr, tip) ;

— regimul de activitate fizică zilnică : muncă fizică, mers pe jos, înnot, gimnastică. Se va calcula consumul caloric rezultat din aceste acţiuni.

d. *Ciclul menstrual şi eventual patologia perinatală.* Pot furniza indicatori diagnostici relativi prin relevarea unor tulburări hormonale hiperlipidemiante (climax, prediabet).

e) *Boli şi tratamente hiperlipidemiante.* Se vor investiga condiţiile hiperlipidemiante rezultate din prezenţa într-un trecut mai mult sau mai puţin apropiat al unor boli hiperlipidemiante, sau al unor tratamente ce au ca efect secundar apariţia HL-HLP (hormoni sexuali, steroizi, preparate tiazidice).

C. ISTORICUL BOLII

Cele mai sugestive tulburări funcţionale sînt :

a) manifestări vasculare ischemice de origine ateromatoasă :

— simptomele cardiopatiei ischemice dureroase sau nedureroase ;

— simptomele aterosclerozei cerebrale precoce ;

— sindromul de ischemie periferică a membrelor inferioare.

b) tulburări digestive :

— balonări postprandiale ;

— greţuri, uneori vărsături ;

— crize dureroase abdominale, rezistente la medicaţia antispastică obişnuită ;

c) astenie fizică sau psihică, intensă, aparent nemotivată cu somnolenţă postprandială (în lipsa insuficienţei hepatice). Este vorba de o veritabilă astenie metabolică, asemănătoare celei întîlnite în diabetul zaharat, hipercalcemie, hipopotasemie etc. ;

d) manifestări articulare : artralgii însoţite uneori de fenomene inflamatorii articulare (accidente pseudo-reumatismale sau pseudogutoase).

D. EXAMENUL FIZIC

Examenul fizic poate sugera existenţa HL—HLP, sau furnizează elemente etiologice importante. Ne interesează în special :

— o eventuală constituţie endocrinopată ;

— obezitatea ;

— stigmatele dermatologice şi oculare ;

— starea aparatului cardio-vascular şi a ficatului, splinei, veziculei biliare şi pancreasului ;
— starea sistemului nervos central.

V.3.2. EXPLORĂRI PARACLINICE

Examinările paraclinice sînt dominate de investigaţiile vizînd lipidele şi lipoproteinele serice, care permit diagnosticul tipului HDL sau HLP. Celelalte explorări au ca scop evidenţierea tulburărilor metabolice asociate (glucidice şi protidice), diagnosticul organopatiilor, al unei eventuale boli de bază drept cauză a HL—HLP, dar mai ales bilanţul stării aparatului cardio-vascular.

A. Explorarea lipidelor şi a lipoproteinelor serice

În clinică, obiectivul major al explorării lipidelor şi lipoproteinelor serice îl reprezintă *determinarea tipului HLP*. Selectarea metodelor de explorare, principiile de interpretare şi corelare a datelor, în vederea tipizării lipoproteinelor, se face conform indicaţiilor O.M.S. (3), pe care le vom reda în detaliu. Deoarece în cadrul lor se operează cu termenii de HL şi HLP, vom proceda la definirea acestora, corelativ cu termenii de normolipidemie şi normolipoproteinemie. În final, vom indica etapele diagnosticului tipurilor de HLP, aşa cum trebuie efectuate în practica medicală curentă.

DEFINIREA HIPERLIPIDEMIEI ŞI A HIPERLIPOPROTEINEMIEI

Termenul de hiperlipidemie este aplicat stărilor în care colesterolemia şi/sau trigliceridemia depăşesc valorile normale ale decadei de vîrstă respective, indiferent de sex. În tabelul V.9, redăm valorile normale ale colesterolului şi trigliceridelor serice pe care le propunem noi, ca rezultat al unui amplu studiu epidemiologic. Avînd în vedere necesitatea practică a tabelului (orientare rapidă, memorare facilă) am redat valorile întregi ale mediei aritmetice, detaliile calculului statistic fiind expuse în capitolul VIII.

Hiperlipoproteinemia se defineşte în două moduri :

— Calitativ : în cazul evidenţierii în plasmă a chilomicronilor sau beta-VLDL, lipoproteine care, în condiţii bazale, la un subiect normal, nu se găsesc în sînge (HLP tip I şi III).

— Cantitativ : în cazul în care LDL şi/sau VLDL depăşesc valorile normale ale decadei de vîrstă respective, indiferent de sex (HLP tip II a, II b, IV şi parţial V). Această definiţie presupune cantificarea lipoproteinelor.

În tabelul V.9, redăm valorile normale ale LDL, VLDL şi HDL.

În literatură, criteriile după care se defineşte hipercolesterolemia şi hipertrigliceridemia sînt extrem de controversate. Redăm în continuare regulile propuse de Fredrickson (13) în acest scop :

Scanned with OKEN Scanner

Regula nr. 1. Indicația certă a unei hiperlipidemii este oferită de creșterea valorilor trigliceridelor și colesterolului seric peste limitele redate în tabelul V.9. În tabelul V.10, cu scop orientativ, redăm valorile recomandate de Fredrickson, valabile în cazul populației americane din

Tabelul V.9

Valorile normale ale colesterolului seric total, trigliceridelor (mgr%) și lipoproteinelor serice (col LDL, col. VLDL; col. HDL mgr%); datele sînt valabile pentru R.S. România

Vîrsta ani	Colesterolemie mgr. %	Trigliceridemie mgr. %	VLDL (....) col.-VLDL(....) mgr. %	LDL (....) col. LDL (....) mgr.%	HDL (....) col. HDL (....) mgr.%
La naștere	70— 90	55— 70	11—13	55— 65	20—25
0—19	135—170	50— 60	9—11	80—100	40—50
20—29	145—180	60— 75	13—16	90—110	40—50
30—39	150—190	70— 85	13—16	95—115	40—50
40—49	175—220	95—115	16—20	110—135	45—55
50—59	190—235	100—125	20—24	120—150	35—45
>60	200—250	110—135	24—27	135—170	30—40

Statul Maryland. Limita superioară admisă a valorilor colesterolului și trigliceridelor ar putea să surprindă la început. Menționăm însă că toți bolnavii care depășesc aceste valori, au o HL severă (de regulă, dar nu obligatoriu, o HLP primară familială). Deoarece s-a demonstrat că situarea valorilor colesterolului și trigliceridelor sub limitele din tabel nu exclude totuși creșterea riscului cardiopatiei ischemice s-a considerat, din rațiuni de ordin practic și profilactic necesară, adoptarea celei de-a doua reguli.

Tabelul V.10

Limitele superioare ale colesterolului, trigliceridelor și LDL serice propusă de Fredrickson (38). Valorile care depășesc aceste concentrații indică cu certitudine existența HLP

Vîrsta (ani)	Colesterolemie (mg. %)	Trigliceridemie (mg. %)	LDL (col.-LDL-mg. %)
<29	240	140	170
30—39	270	150	190
40—49	310	160	190
>50	330	190	210

Regula nr. 2. În eventualitatea creșterii colesterolului peste 220 mg % și a trigliceridelor peste 140 mg %, la toți bolnavii sub 55 de ani, este vorba de o hiperlipidemie care trebuie supravegheată.

Fredrickson (38) mai propune o regulă pentru aprecierea hiperlipidemiei. Orice creștere a colesterolului seric peste 200 mg %, plus vîrsta

Scanned with OKEN Scanner

bolii subiectului în ani, sau a trigliceridemiei de peste 150 mg%, semnifică o hiperlipidemie care trebuie reţinută pentru precizări diagnostice de finețe.

Este posibil ca şi definirea HLP să fie reevaluată. Oricum, în prezent, considerăm că aceşti parametri sînt folositori în practica medicală.

O problemă deosebită este aceea a stabilirii limitelor superioare normale ale colesterolemiei, trigliceridemiei, lipoproteinemiei. Se cunosc cele două modalităţi statistice prin care este posibilă această delimitare (calculul celor 95 percentile sau plusarea dublului deviaţiei standard la media aritmetică). Deoarece valorile obţinute în aceste cazuri s-au dovedit ulterior a fi factori de risc vascular, noi am optat pentru stabilirea limitei superioare, prin identificarea sa cu media aritmetică. Considerăm că această atitudine prudentă este cea mai indicată în momentul actual, deşi sîntem convinşi de caracterul ei arbitrar.

DIAGNOSTICUL BIOCHIMIC AL TIPURILOR DE HLP — CRITERIILE O.M.S.

a. *Hiperlipoproteinemia tip I*

Metode de diagnostic:

● Ca test diagnostic este recomandat testul chilomicronilor care este constant pozitiv.

Pentru facilitarea înţelegerii aspectului plasmei se recomandă utilizarea tabelului IV.3 şi a figurii IV.1.

Colesterolul, de regulă, creşte moderat alături de o creştere mare a trigliceridelor, raportul C/TG < 0,2 ; raportul < 0,1 se întîlneşte numai în acest tip de HLP ;

metodele electroforetice evidenţiază prezenţa benzii chilomicronilor ; banda beta nu este crescută, iar banda prebeta poate fi absentă, sau prezentă în eventualitatea în care este cuprinsă în banda masivă a chilomicronilor (diagnostic uzual).

Metodele ultracentrifugale relevă creşterea marcată a chilomicronilor, creşterea uzuală a VLDL (separate incomplet de chilomicroni) ; HDL şi LDL sînt mai scăzute.

De reţinut, creşterea uşoară şi intermitentă a VLDL (prebeta-LP) care se datoreşte dificultăţilor de separare a acestor două familii lipoproteice. Totuşi, excesul de VLDL este evident mai scăzut, comparativ cu creşterea enormă a chilomicronilor.

Teste recomandate pentru diagnostic

— testul chilomicronilor :
— electroforeza.

b. *Hiperlipoproteinemia tip II a*

Metode de diagnostic:

Plasma clară (observaţie foarte folositoare, dar nu întotdeauna cu valoare diagnostică) ;

colesterolul seric în mod obişnuit este crescut, alături de trigliceride normale ; C/TG > 1,5 ;

metodele electroforetice evidenţiază : banda beta-LP intensă, banda prebeta-LP poate fi absentă, sau prezentă de intensitate normală, la fel

Scanned with OKEN Scanner

ca şi alfa-LP ; chilomicronii sînt absenţi (diagnosticul se stabileşte numai prin estimarea concentraţiei LDL) ;

metodele ultracentrifugale pun în evidenţă creşterea LDL (Sf 0—20), iar VLDL (Sf 20—400) şi HDL sînt normale.

c. *Hiperlipoproteinemia tip II b*

Metode de diagnostic:

• Aspectul plasmei poate varia ; ea este clară sau cu turbiditate crescută, dar oricum, fără prezenţa stratului chilomicronic (nu este de valoare diagnostică).

Colesterolul şi triglicéridele serice sînt crescute în mod obişnuit ; raportul C/TG fiind variabil, nu este de valoare diagnostică.

Metodele electroforetice relevă : banda beta-LP foarte intensă, banda prebeta-LP intensă, alfa-LP normale, iar chilomicronii absenţi.

Diagnosticul este posibil numai prin estimarea concentraţiei LDL sau VLDL.

Metodele ultracentrifugale evidenţiază creşterea LDL (Sf 0—20) şi a VLDL (Sf 20—400), absenţa chilomicronilor, iar HDL care sînt normale au valoare diagnostică.

De menţionat faptul că, certitudinea diagnosticului HLP II b depinde de stabilirea creşterii anormale a concentraţiei LDL. Aceasta se obţine foarte precis prin ultracentrifugare preparativă sau analitică, fie prin estimare, conform nomogramei din fig. V.3, fie prin aplicarea formulei descrisă în capitolul IV. LDL poate fi determinată şi cu ajutorul analizei imunochimice a fracţiunii 1,006 din infranatant, prin utilizarea serului anti-LDL. Acest ser reacţionează şi cu VLDL, motiv pentru care nu permite o evaluare exactă a întregii plasme.

Teste recomandate pentru diagnostic :

— cînd raportul C/TG > 2, se recomandă utilizarea în scop diagnostic a colesterolemiei, trigliceridemiei şi electroforezei ;

— cînd se exclude HLP tip III, iar TG < 400, se recomandă folosirea colesterolemiei, trigliceridemiei, colesterol-HDL şi calcularea LDL. O concentraţie mai mare a LDL în prezenţa trigliceridelor serice normale pledează în favoarea HLP tip II a, în timp ce creşterea trigliceridelor anunţă o HL tip II b ;

— analiza ultracentrifugală.

d. *Hiperlipoproteinemia tip III*

Metode de diagnostic:

• Plasma cu turbiditate crescută, uneori cu stratul chilomicronic cremos (test chilomicronic fals pozitiv) este utilă, dar nu de interes diagnostic :

Colesterolul şi trigliceridele plasmatice crescute : C/TG este în mod frecvent 1, dar variază între 0,3 şi 2 :

Metodele electroforetice necesare pentru diagnosticul acestui tip sînt variate :

1) electroforeza pe hîrtie, agaroză, acetat de celuloză evidenţiază o bandă beta largă („broad beta") extinsă din poziţia beta pînă la poziţia prebeta ; banda prebeta este prezentă şi de intensitate crescută, alături

de alfa-lipoproteine normale ; o bandă fină chilomicronică se poate observa adesea, chiar în cazul unei alimentaţii cu un conţinut redus de grăsimi ;

2) electroforeza în gel de poliacrilamidă relevă o bandă prebeta-LP lărgită, fără prezenţa vreunei benzi lipoproteice în poziţia uzuală beta-LDL. Această lipsă a LDL în electroforeză în gel de poliacrilamidă, concomitentă cu migrarea caracteristică din electroforeza pe hîrtie, agaroză sau acetat de celuloză, constituie un test prezumtiv pentru HLP tip III (95% pozitiv) ;

3) electroforeza în bloc de amidon a VLDL izolate evidenţiază : alfa-VLDL, care migrează în poziţie alfa-2 şi beta-VLDL cu migrare în poziţia beta (are valoare diagnostică) ;

4) electroforeza fracţiunii supernatante a plasmei după ultracentrifugare, cu densitatea de 1,006 g/ml, efectuată prin una din cele patru metode descrise mai sus, relevă lipoproteine cu migrare de tip beta. Or, în condiţii normale, numai prebeta-LP sînt prezente în această fracţiune a plasmei (demonstrarea lipoproteinelor beta flotante reprezintă în prezent diagnosticul standard definitiv).

— Ultracentrifugarea analitică pune în evidenţă : subclasa LDL cu densitate cuprinsă între 1,010—1,063 (Sf 0—12), mult scăzută ; subclasa LDL cu densitatea cuprinsă între 1,006—1,019 (Sf 12—20) este disproporţional de crescută ; VLDL (Sf 100—400) sînt crescute ; chilomicronii pot fi prezenţi. Această inversiune a concentraţiei obişnuite a LDL şi VLDL este caracteristică HLP tip III. De asemenea este posibil să apară modificări similare în subclasele LP mai largi cu Sf cuprins între 0 şi 20 sau 20—400, sau în alte tipuri.

Combinarea ultracentrifugării preparative cu electroforeza s-a descris mai sus. Menţionăm că această analiză combinativă poate fi completată cu determinarea colesterolului şi trigliceridelor în fracţia VLDL rezultată din ultracentrifugare (densitatea mai mică decît 1,006 g/ml). În mod normal, raportul C/TG < 0,2 în VLDL ; creşterea lui peste 0,4 este un indiciu pentru HLP tip III. În concluzie HLP tip III, este o anomalie caracterizată prin evidenţierea în ser a unei LP anormale numită beta-VLDL. Prezenţa ei poate fi suspectată din analiza raportului C/TG=1 sau a variaţiei sale, cît şi a benzii beta largi pe una din electroforeze. Testul diagnostic definitiv îl reprezintă demonstrarea beta-lipoproteinelor flotante, sau estimarea colesterolului şi trigliceridelor în VLDL. Totuşi, un test diagnostic sigur, dar simplu, este de dorit.

Teste recomandate pentru diagnostic :

— electroforeza în poliacrilamidă + electroforeza pe alte medii ;

— ultracentrifugarea preparativă, cu evidenţierea beta-LP flotante sau VLDL în cadrul cărora raportul C/TG este crescut.

e) *Hiperlipoproteinemia tip IV*

Metode de diagnostic :

• Plasma clară, sau cu turbiditate crescută, fără stratul cremos chilomicronic (...observaţie utilă, dar nu de valoare diagnostică).

Colesterolul seric este normal sau crescut, trigliceridele serice sînt crescute ; raportul C/TG este variabil (de foarte mare ajutor, uneori chiar de valoare diagnostică).

Scanned with OKEN Scanner

Metodele electroforetice evidențiază creșterea intensității benzii prebeta-LP ; banda beta-LP este normală sau scăzută ; banda alfa-LP este regiunea prebeta spre origine (observație utilă, dar în lipsa cuantificării regiunea prebeta spre origine (observații utile, dar în lipsa cuantificări LP, nu are valoare diagnostică) ; la electroforeza în bloc de amidon, apare banda alfa-2-VLDL, fără prezența beta-VLDL. Raportul C/TG în VLDL este mai mic decît 0,2.

Metodele ultracentrifugale relevă : VLDL (Sf 20—400) sînt crescute, LDL (Sf 0—20) și HDL sînt normale sau scăzute, iar chilomicronii nu sînt crescuți (valoarea diagnostică).

Un diagnostic cert de HLP tip IV se stabilește în următoarea conjunctură : plasma fără stratul cremos chilomicronic, cu hipertrigliceridemie, dar normocolesterolemie + banda prebeta-LP clar distinctă de beta-LP.

Relația trigliceride-banda prebeta-LP trebuie privită sub dublu aspect :

1) trigliceridele plasmatice folosesc întotdeauna pentru stabilirea concentrației prebeta LP, fiind crescute constant în HLP tip IV, în timp ce,

2) fenomenul invers nu este valabil deoarece putem asista la creșterea benzii prebeta-LP la electroforeză, dar fără un acompaniament din partea trigliceridelor plasmatice. Este vorba de prezența „sinking prebeta-LP".

Teste recomandate pentru diagnostic :

— în multe cazuri diagnosticul este posibil prin combinarea observației plasmei + colesterolemie + trigliceridemie + electroforeză în cazurile dubioase ;

— estimarea LDL care exclude HLP tip II b ;

— de mare ajutor ne poate fi în unele cazuri, ultracentrifugarea.

f) *Hiperlipoproteinemie tip V*

Metode de diagnostic. Aspectul plasmei : stratul cremos chilomicronic prezent, cu infranatantul a cărui turbiditate este crescută (valoarea diagnostică, dacă se exclude HLP tip III).

Hipercolesterolemie + hipertrigliceridemie, raportul C/TG>0,15, dar < 0,6 (de ajutor, dar nu de valoare diagnostică).

Metodele electroforetice relevă : banda prebeta-LP este crescută și adesea cu o urmă (trailing) pînă la origine, unde o accentuare distinctă indică prezența chilomicronilor ; beta și alfa-LP de regulă sînt scăzute ; nu există beta-VLDL (poate fi de valoare diagnostică, dacă VLDL „cu urmă" (trailing) nu eclipsează banda chilomicronilor).

Metodele ultracentrifugale evidențiază : chilomicromii și VLDL (Sf 20—400), sînt crescute ; HDL și LDL, în special subclasa Sf 0—12, sînt scăzute (valoare diagnostică). Cel mai bun test diagnostic în acest tip de HLP este observarea plasmei, mai ales în eventualitatea creșterii exagerate a prebeta-LP (VLDL maschează electroforetic banda chilomicronilor).

Teste recomandate pentru diagnostic :

— examinarea plasmei + determinarea colesterolului și a trigliceridelor plasmatice ;

— aspectul plasmei necesită diferenţierea cu cazul întîlnit rareori în HLP tip I, datorită creşterii VLDL, sau în cel întîlnit în HLP tip III. În ambele circumstanţe, tipul V de HLP se stabileşte prin raportul C/TG mai mic decît 0,2 în HLP tip I şi prezenţa beta-VLDL în HLP tip III.

ETAPELE DIAGNOSTICULUI BIOCHIMIC AL TIPURILOR DE HLP

În practică, diagnosticul biochimic al tipurilor de HLP trebuie efectuat în următoarele etape :

Etapa I. Pregătirea bolnavului (subiectului) şi a echipei de investigare, conform criteriilor expuse în capitolul IV ; se verifică respectarea lor.

Etapa a II-a. Recoltarea sîngelui în condiţii standard, pregătirea plasmei şi conservarea unei mici cantităţi din ea.

Etapa a III-a. Determinări uzuale : colesterolemie, trigliceridemie, pregătirea plasmei pentru testul chilomicronilor ; efectuarea electroforezei lipoproteinelor în gel de agar sau agaroză.

Etapa a IV-a. Determinarea tipului HLP ; de regulă a doua zi după recoltarea sîngelui, medicul dispune de :

— valorile colesterolemiei şi trigliceridemiei ;
— aspectul plasmei în condiţii standard ;
— aspectul lipidogramei (calitativ) ;
— cuantificarea lipoproteinelor efectuată fie prin lipidograma cantitativă, fie cu ajutorul formulelor sau nomogramelor (dacă se exclude HLP tip III, iar trigliceridele nu depăşesc 400 mg %).

Prin asamblarea acestor date se conturează fie un aspect tipic, cert, fie unul incert.

Aspectele certe, redate în tabelul V.11., permit stabilirea cu certitudine a diagnosticului de HLP tip I, II a, II b, IV, V. Cu probabilitate se diagnostichează tipul III. Confirmarea se face prin evidenţierea lipoproteinelor betaflotante sau prin combinarea diferitelor metode electroforetice.

Aspectele incerte (tabelul V.12.) se datoresc următoarelor situaţii :

a) asocierea unei hipertrigliceridemii severe cu o hipercolesterolemie moderată (poziţia 8). Aspectul plasmei şi al lipidogramei ne furnizează diagnosticul cert de tip HLP tip I sau V, sau permit suspiciunea de HLP tip III. Explorările complementare elucidează incertitudinea, la fel ca în situaţia în care aspectul electroforetic este confuz (banda chilo + banda prebeta ; banda prebeta neseparată de banda beta) ;

b) asocierea unei hipertrigliceridemii cu o hipercolesterolemie în proporţii aproximativ egale, raportul TG/col. fiind aproximativ 1 (poziţia 9). Este una dintre situaţiile foarte frecvent întîlnite în practică. Dacă trigliceridemia nu depăşeşte 400 mg %, iar aspectul electroforetic nu sugerează tipul III, se pot cuantifica LDL şi VLDL conform formulelor sau nomogramelor expuse. Acest lucru este posibil şi cu ajutorul lipidogramei cantitative. Se stabileşte astfel diagnosticul de HLP tip IV sau II b;

c) în poziţia 10 sînt redate unele din cele mai dificile situaţii, la limita dintre normal şi patologic ;

Scanned with OKEN Scanner

— colesterolul și trigliceridele sînt normale sau moderat crescute;
— plasma este clară;
— electroforeza sugerează prezența lipoproteinelor „atipice";
— siguranța diagnosticului o avem după efectuarea lipidogramelor în cele două fracțiuni serice, separate prin ultracentrifugare (D $\geq$ 1000 g/ml sau după determinarea imunologică a lipoproteinei — Lp(a);
— banda prebeta densă (11 a) greu de etichetat ca HLP tip IV (datorită faptului că TG sînt normale sau numai moderat crescute) (sinking prebeta sau lopoproteina (Lp(a);

Tabel V. 11

Circumstanțe tipice

Nr. crt.	Lipidele serice	Aspectul plasmei	Aspectul electroforetic	Cuantificarea lipoproteinelor	Tipul CP.	Observații
1	Colesterol: N Trigliceride: N (Tabel Nr)	Clară	Chilo LDL VLDL HDL β-LP pre-β-LP α-LP	Tabel	Normal	
2	Colesterol: Trigliceride: ↑↑↑↑ $\frac{C}{TG} < 0,2$	Supranatant inel cremos Infranatant clar Test chilomicronic pozitiv	Banda chilo intensă — Normale	Nu este necesară	I	
3	Colesterol: N; ↑ Trigliceride: <250 mg% → Plasma clară >250 mg% → Plasma difuz $\frac{C}{TG} > 0,15$ $\frac{C}{TG} < 0,6$	Opalescentă sau Lactescentă	Banda pre-β intensă	VLDL: ↑↑ LDL: Normale	IV	
4	Colesterol: N Trigliceride: ↑↑↑ $\frac{C}{TG} > 0,15$ $\frac{C}{TG} < 0,6$	Supranatant inel cremos Infranatant Opalescent difuz Lactescent Clar (foarte rar)	Benzile Chilo și preβ intense	VLDL: ↑↑	V	
5	Colesterol: ↑↑↑↑ Trigliceride: N $\frac{C}{TG} > 1,5$	Clară	Banda β-LP Foarte intensă	LDL: ↑↑↑ VLDL: Normale	IIa	
6	Colesterol: ↑↑ Trigliceride: <250 mg% → Idem 3 >250 mg% $\frac{C}{TG}$: variabil fără valoare		Benzile β și pro β intense	LDL: ↑↑ VLDL: ↑	IIb	
7	Colesterol: ↑↑↑ Trigliceride: <250 mg% → Clară >250 mg% → Opalescentă difuză, Lactescentă $\frac{C}{TG} \approx 1 (0,3-2)$ Inel cremos (test chilomicronic fals pozitiv)		Banda β-VLDL (brood-β)	Nu este necesară	III?	Diagnostic probabil: pentru certitudine este necesară demonstrarea fenomenului beta flotării

N = normal C = colesterol TG = trigliceride

— bandă discretă între beta şi prebeta (11 b) (prebeta lente) ;
— bandă discretă situată imediat în afara benzii prebeta (extra-prebeta) ;
— uneori lipidograma este de aspect normal ; ar fi utilă efectuarea electroforezelor în cele două fracţii ultracentrifugale (1006 > D < 1006).

d) În poziţia 11 sînt redate situaţiile caracterizate prin hipercolesterolemie (+→++), uneori însoţite de hipertrigliceridemie (+).

Lipidograma relevă fie o bandă α LP intensă (11 a) fie două benzi α LP (11 b). În ambele cazuri este vorba de hiper-alfa-lipoproteinemie.

Circumstanţele expuse în poziţiile 10 (a, b, c, d) 11 (a, b) nu sînt cuprinse în clasificarea O.M.S.-Fredrickson. Din acest motiv le denumim prin termenul de „tip lipoproteinic neclasificabil".

Acesta trebuie să fie însoţit şi de alte două precizări legate de :

• Comportamentul lipidelor (hipercolesterolemie şi/sau hipertrigliceridemie).

— şi de detaliul lipoproteinic (sinking-pre-β-, Lp (a), extra-pre-β_1, pre-β-lente, Lp (ex), hiper-alfa-LP).

Dacă laboratorul dispune de ultracentrifugă preparativă, tipizarea lipoproteinelor se execută astfel :

— din serul/plasma integrală se execută :
  — testul chilomicronilor
  — determinarea colesterolului
  — determinarea trigliceridelor
  — determinarea lipidelor serice totale
  — electroforeza lipoproteinelor în gel de agar sau agaroză (calitativă şi cantitativă).
— Se fracţionează serul/plasma integrală, (4 cc) prin ultracentrifugare preparativă, timp de 16 h (40 000 turaţii) fără ajustarea densităţii.
— Din supranatantul care este opalescent (D<1006/g/ml) se execută :
  — determinarea colesterolului
  — determinarea trigliceridelor
  — electroforeză calitativă a lipoproteinelor (adică a VLDL şi eventual a chilomicronilor).
— Din infranatant (D > 1006 g/ml) se execută :
  — electroforeza calitativă a lipoproteinelor ;
  — se extrage ser, a cărui densitate se ajustează pînă la D = 1 063 g/ml ;
  — se ultracentrifughează timp de 20 ore (40 000 turaţii) ;
  — Supranatantul (de culoare galbenă), are o densitate de 1 063—1 006 g/ml, conţinînd deci LDL. Aici se determină colesterolul şi TG ;
  — infranatantul (galben la bază şi clar în rest) are o densitate > 1 063 g/ml, conţinînd deci HDL. De aici se determină colesterolul şi TG.

Cea de-a doua fracţionare prin ultracentrifugare, poate fi înlocuită de precipitarea LDL cu ajutorul Cl_2Mn. Supranatantul conţine HDL, în care se determină colesterolul şi TG.

Scanned with OKEN Scanner

Tabel V. 12

Circumstanțe atipice

Nr. crt.	Lipidele serice	Aspectul plasmei	Aspectul electroforetic	Cuantificarea lipoproteinelor	Diagnostic prezumtiv	Explorări suplimentare	Diagnostic cert
8	Colesterol: ↑ Trigliceride ↑↑↑ (>400) $\frac{C}{TG}$: 0,2-0,3	Supranatant: Inel cremos Infranatant: Clar	Banda Chilo intensă	Nu este necesară	→	Nu sînt necesare	I
		Supranatant: Inel cremos Infranatant: Opalescent Lactescent	a Benzile Chilo și preβ intense	Nu este necesară	→	Nu sînt necesare	V
			b β-VDLD	Nu este necesară	III	Electroforeze în: Acetat de celuloză Poliacrilamidă Bloc de amidon	III
			c Separare defectuoasă necaracteristică	Nu este necesară	III V (?) I (?)	Ultracentrifugare sau electroforezele de la poz. b	III (mai rar I sau V)
9	Colesterol: ↑↑ Trigliceride ↑↑ >250 mg% $\frac{C}{TG} \approx 1$	→ Opalescență sau Lactescență difuză	Banda preβ intensă	VLDL: ↑↑ LDL: N	→	În vederea cuantificării	IV
			Benzile β și preβ intense	VLDL: ↑↑ LDL: ↑↑	→	În vederea cuantificării	IIb
10	Colesterol: N; ↑ Trigliceride: N; ↑	Clar	a β preβ	Nu este necesară	Lp. atipice • Sinking preβ Lipoproteina Lp (a) • Extra preβ-LP • Preβ-lente	Ultracentrifugare și efectuarea lipidogramelor în cele două fracțiuni (D>G<1,006)	Lp. atipice Tip Lp neclasificabil"
			b β preβ Lentă				
			c β preβ extra preβ				
11	Colesterol: ↑↑↑ Trigliceride: N; ↑	Clar	a α Intensă	HDL: ↑	hiper. HDL	→	Hiper HDL Tip LP neclasificabil"
			b Banda α dublă				

Redăm în figura V.2 etapele tipizării lipoproteinelor cu ajutorul metodelor descrise. Combinarea lor, se consideră a fi ideală pentru diagnosticul cît mai corect al HL-HLP. Astfel, la fiecare tip HLP trebuie precizat dacă (39) :

— conține sinking prebeta LP ;

— sau dacă conține prebeta LP-lente.

Aceste observații sînt necesare, deoarece :

— la bolnavii cu HLP și prebeta LP-lente (+) se remarcă creșterea conținutului de colesterol în VLDL (raportul colesterol/TG fiind crescut) și a conținutului de trigliceride în LDL ;

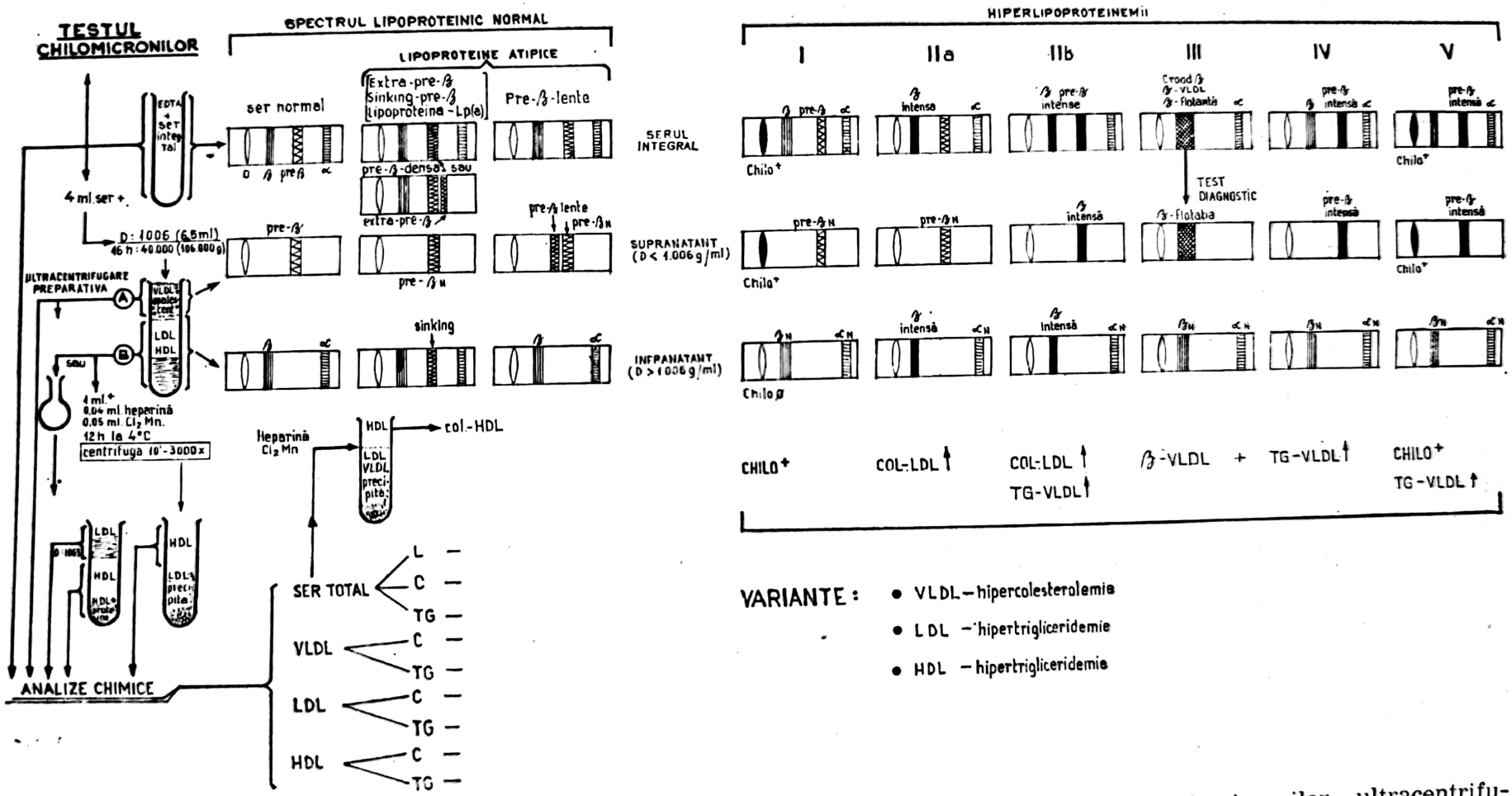


Fig. V.2. — Combinarea metodelor pentru determinarea tipului lipoproteinic: testul chilomicronilor, ultracentrifugarea preparativă, determinarea colesterolului, trigliceridelor și efectuarea electroforezelor din serul integral, supra și infranatant.

Scanned with OKEN Scanner

— la bolnavii cu HLP şi sinking prebeta LP (+), se observă creşterea conţinutului de colesterol în HDL.

Prin utilizarea ultracentrifugării preparative, urmate de determinarea colesterolului şi trigliceridelor în cele trei clase lipoproteice majore, este posibilă evidenţierea unor „variante" de HLP :

- LDL-hipertrigliceridemia (hipertrigliceridemia este cauzată de creşterea colesterolului din VLDL)
- LDL-hipertrigliceridemia (hpiertrigliceridemia este cauzată de creşterea trigliceridelor din LDL)
- HDL-hipertrigliceridemia (în acest caz anomalia lipidică, hiper TG, este produsă de creşterea TG în HDL).

Demonstrarea acestor „variante" de HL-HLP este de dată prea recentă pentru a se permite o apreciere exactă asupra semnificaţiei lor.

Oricum, nefiind incluse în clasificarea O.M.S.-Fredrickson, vor fi definite în modul în care au fost menţionate anterior.

Propunem aceste etape în vederea standardizării explorării lipidologice la noi în ţară. În recomandarea lor, avem în vedere următoarele fapte verificate de experienţa noastră :

1. Diagnosticul tipurilor de HLP se execută cu ajutorul unor baterii de teste.

2. Investigaţiile primare (colesterolemia, trigliceridemia, testul chilomicronilor) trebuie efectuate cu multă atenţie şi rigurozitate, deoarece o eventuală eroare poate fi sursa altor erori în etapele ulterioare.

3. Lipidograma în gel de agar şi agaroză este indispensabilă, în cele mai multe cazuri, deşi există autori care contestă utilitatea acestor metode în evidenţierea tipurilor de HLP. Prin gelul de agaroză se obţine o bună separare a fracţiilor lipoproteice, dar din cauza costului crescut, recomandăm lipidograma în gel de agar, care are toate calităţile pentru a putea fi întrebuinţată în acest scop.

4. Cuantificarea LDL şi VLDL se recomandă a fi efectuată atît cu ajutorul lipidogramelor, cît şi al formulelor sau nomogramelor. Aprecierea cantitativă nu trebuie să lipsească din diagnostic, deşi prin metodele recomandate de noi nu se poate exclude în totalitate un anumit grad de eroare.

5. În prezent, la noi în ţară, ultracentrifugarea nu poate fi utilizată ca metodă de diagnostic decît în unele centre. Din acest motiv, diagnosticul HLP tip III poate fi stabilit cu probabilitatea cea mai mare prin combinarea electroforezelor în gel de amidon, acetat de celuloză şi poliacrilamidă.

6. Orice diagnostic de HLP trebuie precedat de respectarea condiţiilor expuse şi urmat de verificarea sa, după 3—4 săptămîni (interval în care subiectul îşi păstrează obiceiurile alimentare, condiţiile de viaţă şi muncă etc.).

7. Diagnosticul tipurilor de HLP trebuie completat cu diagnosticul formei etiologice.

Scanned with OKEN Scanner

ALTE METODE DE DETERMINARE A TIPULUI HIPERLIPOPROTEINIC

Aceste metode se referă la utilizarea codului BINAR (30), preconizat de DITO. Este de fapt o prelucrare semiautomată a datelor primare, obținute prin investigațiile amintite pînă acum.

Harlan (31) preconizează determinarea tipului HLP prin utilizarea unei nomograme (fig. V.3). Ca date preliminare sînt necesare colesterolemia și trigliceridemia, iar ca ajutor în diagnostic, observația plasmei, conform regulilor descrise anterior.

În alte cazuri se determină raportul beta LP/prebeta LP (15). Acesta va varia între 1,6—4 (HLP tip II), 0,9—8 (HLP tip III) și 0,3—0,6 (HLP tip IV).

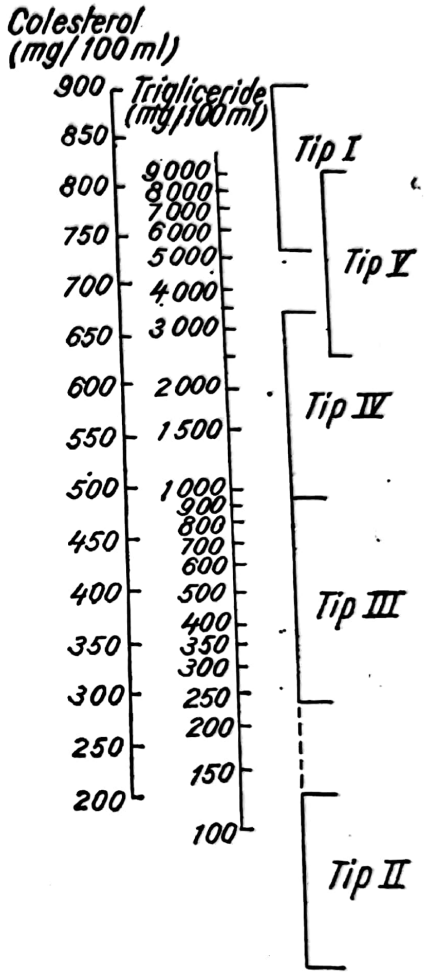


Fig. V.3. — Nomograma Harlan (31) propusă pentru determinarea tipurilor de HLP. Se unesc punctele care marchează colesterolul și trigliceridele; prin prelungirea liniei spre dreapta se va depista tipul HLP.

B. EXPLORĂRI VIZÎND METABOLISMUL LIPIDIC ȘI LIPOPROTEINIC

Conform indicațiilor memorandumului O.M.S. (3), de uz diagnostic pot fi următoarele metode de explorare a metabolismului lipidic și lipoproteinic:

— determinarea activității LPL;

— determinarea colesterolului esterificat, colesterolului liber și a raportului dintre ele;

— determinarea activității LCAT;

— efectuarea testului intravenos al toleranței la grăsimi;

— determinarea toleranței la vitamina A.

C. EXPLORAREA METABOLISMULUI GLUCIDIC ȘI PROTEINIC

Se referă la depistarea și încadrarea stadială a tulburărilor toleranței la glucide, prin metodele recomandate de O.M.S. Concomitent se vor depista tulburări de metabolism ale acidului uric sau ale proteinelor.

D. EXPLORAREA FUNCȚIONALĂ PE APARATE

Explorarea funcțională pe aparate are ca scop diagnosticul organopatiilor și aprecierea stării aparatului cardiovascular, eventual a complicațiilor de la acest nivel.

Orientativ, amintim necesitatea efectuării oftalmoscopiei, radiocirculogramei cerebrale, electrocardiogramei în repaus + testul Master, oscilometria, alte metode pentru evidențierea sindromului de ischemie peri-

ferică, arteriografii selective, inclusiv coronarografii, radiografii abdominale pentru evidențierea calcificării arterelor sau a pancreasului (32).

V.3.3. TESTELE DIETETICE

Pentru facilitarea înțelegerii problemei, testele dietetice sînt expuse în capitolul X.2.

V.3.4. CONSULTUL INTERDISCIPLINAR

Consultul interdisciplinar este necesar. Ne vom adresa, în funcție de particularități, dermatologului, cardiologului, oftalmologului, neurologului și chiar chirurgului. Astfel se aduc în discuție toate detaliile diagnostice.

V.3.5. ENUNȚAREA DIAGNOSTICULUI

Coroborarea, de către medicul avertizat, a datelor clinice și paraclinice, permite diagnosticul de HLP (primară sau secundară) și a tipului ei. Diagnosticul se enunță simplu, fără încărcări inutile. De exemplu :

— HLP primară, tip II a ;
— Diabet zaharat de tip adult. HLP tip IV ;
— HLP tip IV, steroid indusă ;
— Tip lipoproteinic atipic (hipertrigliceridemie cu sinking-pre-beta LP).

S-au purtat multe discuții generate de caracterul subsidiar acordat datelor clinicii în diagnosticul HLP.

Într-un strălucit editorial, Carlson ridică celebrele „Four p problem" în clasificarea HLP (plasma or patient, paper electrophoresis or physicians), întrebîndu-se : ce tipizăm, plasma sau pacientul ? și — cine tipizează, hîrtia de electroforeză sau medicul ?

Aceste întrebări, deși nu sînt fortuite, credem că amploarea sensului lor este exagerată.

În tabelul V.13, sînt redate cele 5 circumstanțe clinice prin care Carlson își justifică întrebările. Descifrarea lor fiind facilă, lăsăm la latitudinea cititorului aprecierea importanței lor care, într-adevăr, este remarcabilă. Dacă rolul acestor întrebări este să atenționeze asupra obli-

Tabelul V.13

Exemplificarea celor „patru probleme P" semnalate de Carlson (33) în clasificarea hiperlipoproteinemiilor

Diagnosticul clinic	Circumstanța clinică	Tipul electroforetic plasmatic
1 — normal	lipemie alimentară	tipul I
2 — normal	tratament cu anticoncepționale	tipul IV
3 — hipercolesterolemie familială	copil	tip normal de adult
4 — hipercolesterolemie familială	tratament cu acid nicotinic	tip „normal"
5 — hipertrigliceridemie familială	femeie	tip „normal masculin"

gativității coroborării medic — date clinice — date biochimice, în efortul diagnosticării HLP, atunci discuția lui Carlson este motivată. Dacă nu, ne permitem să reluăm întrebările și să răspundem astfel :

— ce tipizăm, plasma sau pacientul ? este logic că tipizăm plasma care *aparține* pacientului.

— cine tipizează —, medicul sau hîrtia de electroforeză ? Este firesc că tipizează medicul, prin metodele electroforetice.

Nu subscriem nici la propunerea lui Carlson, preluată la noi de Cucuianu, referitoare la modalitatea de formulare a diagnosticului HLP. Redăm cîteva exemple aparținînd lui Carlson și contraargumentele noastre.

Se propune formularea diagnosticului de deficit de LPL cu HLP tip I, căreia noi îi opunem pe aceea de „HLP primară familială tip I", sau HLP tip I secundară, deoarece :

— termenul de „primar" (familial) sau secundar, aduce precizări etiologice ;

— tipul I incumbă deficitul de LPL (care în baza caracterului primar al HLP poate fi explicat și patogenetic). De aceea nuanțarea patogenetică din formularea diagnosticului (deficit de LPL) nu este justificată, putînd fi eliminată.

În același sens, diagnosticul de „xantoma tuberosum cu HLP tip III" îl înlocuim cu „HLP primară tip III" (eventual se adaugă „xantome tuberoase"). Mențiunea de xantom tuberos nu poate domina formularea unui diagnostic din moment ce nu-l definește. Anomalia tegumentară poate să dispară în urma tratamentului, dar tulburarea metabolică lipoproteică persistă.

În concluzie diagnosticul HLP rezultă din tripla confruntare :

— date și circumstanțe clinice ;

— date paraclinice furnizate de un laborator standardizat ;

— medic avertizat.

Enunțarea diagnosticului va cuprinde :

— boala : HLP ;

— caracterul tipologic : I—V ;

— particularitățile etiologice : primară, secundară (cu precizările de rigoare sau urmînd în mod firesc enunțării diagnostice a bolii de bază).

V.4. MECANISME GENERALE HIPERLIPIDEMICE-HIPERLIPOPROTEINEMICE

Sîntem obligați să începem detalierea acestui capitol printr-o afirmație pe care nu o dorim descurajantă ci, din contră, mobilizatoare : etiopatogeneza HL-HLP este încă neelucidată. În ciuda eforturilor mari de pînă acum, și mai mari din zilele noastre, realizările concrete, deși remarcabile, nu sînt pe măsura necesităților practice (terapie și profilaxie rațională). Cauza majoră a dificultăților, constă în plurietiologia bolii

care, pe căi patogenetice variate, induce tulburări majore ale metabolismului lipidic (hiperlipogeneză, hiperlipoliză, hiperlipoproteinogeneză, insuficienţa activităţii LPL şi catabolism lipoproteic modificat calitativ şi cantitativ). Finalitatea patometabolică este dezechilibrul secvenţial de tip excedentar „input" „output" în metabolismul lipidic şi lipoproteinic, cu apariţia variatelor forme de hiperlipidemie şi hiperlipoproteinemie.

Este vorba deci de o multitudine de cauze şi căi hiperlipidemiante şi hiperlipoproteinemiante, cu o multitudine de posibilităţi de intricare. Dacă adăugăm la acestea intimitatea „cibernetică" şi „moleculară" a mecanismului hiperlipidemiei însăşi, avem o explicaţie cel puţin parţială a nerezolvării problemei.

Factorii ecologici *stress-ul* patoalimentaţia calitativă şi cantitativă, şi eventualele circumstanţe patologice HL-HLP (boli primare, terapii hiperlipidemiante etc.), sînt principalele cauze ale HL şi HLP (fig. V.4).

Modalităţi patogenetice. Căile prin care factorii etiologici acţionează în sens HL şi HLP sînt :

— factori nervoşi ;

— factori hormonali (adesea neurohormonali) ;

— factorul alimentar (considerat de noi atît factor etiologic, cît şi modalitate patogenetică).

Încercînd o sinteză a datelor din literatură, am conceput o schemă a mecanismelor generale HL şi HLP (fig. V.4).

Plurietiologia bolii este reprezentată în esenţă de doi factori majori :

— factorul genetic de regulă poligenic, prin efectuarea mai multor genome, cu variate posibilităţi de transmisie ;

— factorii ecologici şi eventualele circumstanţe patologice HL şi HLP (boli primare, terapii cu efecte hiperlipidemiante etc.).

Stressul şi pato-alimentaţia calitativă şi cantitativă, sînt principalii factori ecologici HL şi HLP.

Finalitatea patometabolică. Finalitatea patometabolică este în esenţă reprezentată de dezechilibrul cinetic secvenţial de tip excedentar „input" > „output" în metabolismul lipidic (colesterol şi trigliceride), apoproteic şi al claselor majore de lipoproteine.

Hiperchilomicronemia, anomalia definitorie a HLP tip I, se traduce prin hiper TG, avînd drept cauză insuficienţa LPL primară sau secundară. Aceasta, în prezenţa unei alimentaţii hiperlipidice, se validează în HLP de tipul descris mai sus.

Hiperprebeta-LP (hiper VLDL—HLP tip IV.), recunoaşte un mecanism mult mai complex de producere, în mare parte neelucidat. Amplificarea

Scanned with OKEN Scanner

secvenței „input" din metabolismul VLDL este condiționată fie de hiper TG (demonstrat), fie de creșterea sintezei apo-VLDL (nedemonstrat). Există date preliminare asupra intercondiționării intrahepatocitare, TG-apo-LP, dar faptele trebuiesc confirmate.

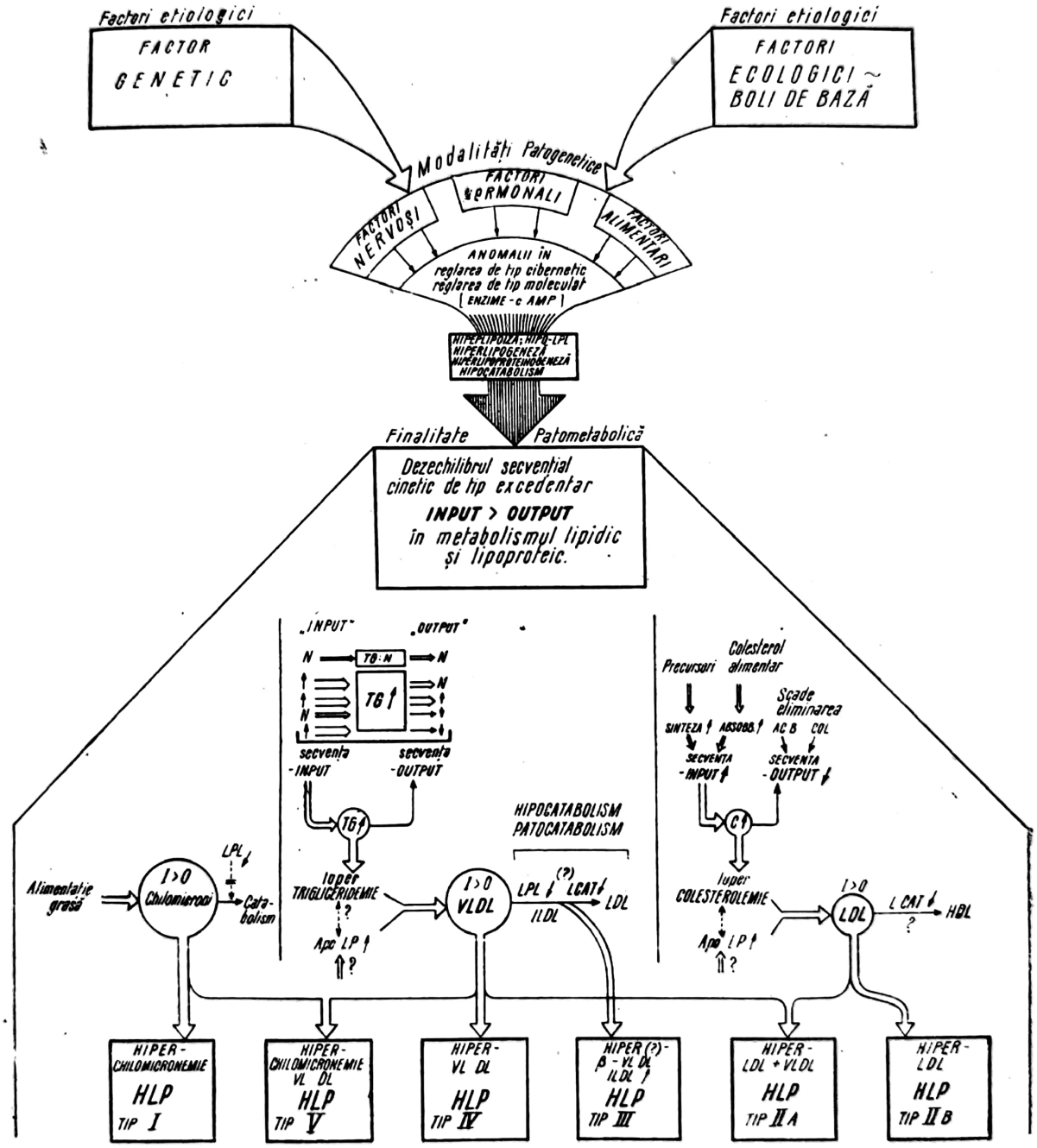


Fig. V.4. — Mecanisme generale hiperlipidemiante și hiperlipoproteinemiante.

Hipertrigliceridemia apare în cadrul dezechilibrului secvențial „input" > „output" din propriul ei metabolism. NIKKILLA (34) a sistematizat posibilitățile instalării acestui dezechilibru astfel (fig. V.4):

Tipul A — creşterea secvenţei „input" + secvenţa „output" normală, întîlnită în diabetul zaharat, obezitate, HLP tip IV familial, HLP alcoolic indusă.

Tip B — creşterea simultană (dar probabil discordantă) atît a secvenţei „input", cît şi a secvenţei „output". Hipertiroidismul şi terapia cu anticoncepţionale reprezintă condiţiile în care se depistează această anomalie.

Tipul C — secvenţa „input" este normală, dar secvenţa „output" scăzută, aşa cum apare în hipertiroidism, hiperlipemia diabetică (HLP tip I), hipertrigliceridemia familială (definiţia autorului — 34).

Tipul D — întîlnit în sindromul nefrotic şi caracterizat prin creşterea secvenţei „input" concomitent cu scăderea secvenţei „output".

Modificarea secvenţei „output" din metabolismul VLDL trebuie privită în două sensuri :

a) hipocatabolism de care pot fi răspunzătoare insuficienţa activităţii LPL şi LCAT, cît şi insuficienţa captării AGL de către ţesutul adipos (35) sau alte anomalii încă nedepistate ;

b) patocatabolism, care are ca finalitate acumularea de beta-VLDL în plasmă, anomalie caracteristică HLP tip III.

Hiperbeta-LP (hiper LDL — HLP tip II a). Este consecinţa prevalenţei secvenţei „input" asupra secvenţei „output" din metabolismul LDL. Datele asupra patologiei secvenţei „output" sînt puţine, departe chiar de a sesiza anomalia şi necidecum de a o explica. Amplificarea secvenţei „input" este însă certă, în inducerea ei, invocîndu-se mai ales hipercolesterolemia. Probabil că sinteza apo LDL şi interrelaţia hipercolesterolemie-apo-LDL să fie şi ea răspunzătoare de anumite forme de hiper LDL.

Hipercolesterolemia este, la rîndul ei, produsă de excedentul secvenţei „input" asupra secvenţei „output" din metabolismul său. Dezechilibrul poate să apară din combinarea acestor posibilităţi :

— creşterea sintezei şi a absorbţiei colesterolului ;

— scăderea eliminării acizilor biliari sau a colesterolului însuşi.

Asocierea în grade variate, calitativ şi cantitativ a unor anomalii, are ca rezultantă :

— HLP tip II b (hiper LDL + hiper VLDL) ;

— HLP tip V (hiperchilomicronemie + hiper VLDL).

Ar fi greşit să credem că mecanismele HL-HLP au la bază numai alterarea metabolismului lipidic şi lipoproteinic. În realitate, ele sînt intricate intim cu metabolismul glucidic şi proteic. Deoarece relaţia metabolică glucide-lipide şi/sau lipoproteine este dosebit de complexă va fi redată defalcat în diferite capitole.

Consecinţele tisulo-vasculare şi circulatorii ale HL-HLP sînt de o importanţă covîrşitoare, explicînd nocivitatea deosebită a acestor anomalii metabolice. Este vorba în esenţă de alterarea mecanismelor de coagulare-fibrinoliză, aterogeneză şi perturbări circulatorii oclusive cu efecte de tip ischemie cronică sau acută, care compromit funcţionalitatea diferitelor organe vitale.

Scanned with OKEN Scanner

VI. HIPERLIPOPROTEINEMII PRIMARE

Așa cum rezultă din memorandumul O.M.S. (1), grupul HLP primare cuprinde :

— HLP primare familiale * ;
— HLP primare produse de excesul alimentar (inclusiv alcoolul) ;
— HLP primare produse de medicament.

Din rațiuni de ordin practic, Friedrickson (2) propune restructurarea nosologică a HLP primare prin adăugarea la acest grup a HLP din obezitate, diabet cetorezistent (tip juvenil și de tip adult) din pancreatite și *stress*.

Pentru perfecta înțelegere a faptelor, vom aborda HLP familiale, cu caracter prioritar, așa cum au fost recent sintetizate în mod excelent de către Fredrickson și Levy (3).

Caracterul familial al HLP nu presupune în mod absolut necesar existența unor mutații în „loci" care prefigurează reglarea sau structura lipoproteinelor „per se" (3), deoarece acestea fiind macromolecule complexe, se găsesc „potențial sub controlul mai multor genoame care reglează diferite aspecte ale metabolismului lipidic, proteinic sau glucidic" (3).

VI. 1. HIPERLIPOPROTEINEMIA FAMILIALĂ TIP I

(Sinonime : hiperchilomicronemie familială, hiperlipemia familială lipidic indusă, lipoidoza hepato-splenomegalică tip Bürger-Grütz, hiperlipemia familială idiopatică, hiperlipemia de retenție, hiperlipemia esențială) (3).

VI.1.1. CADRUL NOSOLOGIC

Fredrickson și Levy (3) definesc acest tip familial de HLP, drept hiperchilomicronemie masivă în prezența unei diete caloric și calitativ normală ; tabloul biochimic este ameliorat de o dietă „zero-lipidică".

* În continuare vom utiliza termenul de HLP familiale.

Scanned with OKEN Scanner

Boala este cauzată de activitatea LPL tisulară ineficientă, anomalie moștenită ca expresie a unei doze duble de alelă mutantă autosomală.

Prima descriere a acestui tip de HLP aparține lui Bürger și Grütz în anul 1932 (citați de 3), caracterul ei familial fiind demonstrat în anul 1932 de către Hold, Aylward Timbres (citați de 3). În anul 1956, se evidențiază prezența deficitului LPL la bolnavi cu această boală (4), fapt confirmat ulterior și de alți autori (5).

Boala este foarte rară (pînă în martie 1971, la Centrul clinic din Bethesda, erau dispensarizați 30 de bolnavi din care 12 copii).

VI.1.2. TABLOUL CLINIC

Boala poate debuta în primele săptămîni sau luni după naștere, apariția manifestărilor clinice fiind favorizată de laptele gras din alimentația copilului bolnav. Pînă la vîrsta de 20 de ani, boala se depistează și se caracterizează prin episoade dureroase abdominale și stigmate dermatologice (3,6—23).

A. EPISOADE DUREROASE ABDOMINALE

Episoadele dureroase abdominale cu caracter recurent apar în toate formele de HLP însoțite de hipertrigliceridemie (3), dar cu deosebire în HLP tip I. Localizarea durerilor se află în hipocondrul stîng, flancul stîng sau pot fi generalizate, de mare intensitate, fără a ceda la antispasticele clasice sau la pozițiile antalgice. Au durată de ore sau zile, avînd caracter permanent ; variabilitatea intensității nu permite totuși încadrarea în grupul „durerilor colicative". Ele cedează spontan, lăsînd bolnavul epuizat (3).

Apariția este uneori legată de consumul de alimente grase, alteori fără cauze. Frecvența episoadelor dureroase nu poate fi apreciată exact, tocmai din aceste motive.

În timpul episodului dureros, bolnavii mai acuză : astenie, anorexie, febră, prostrație. La palparea abdomenului, evidențiem hepatosplenomegalie care uneori cedează, odată cu scăderea trigliceridemiei ; alteori hepatosplenomegalia nu cedează și, nu odată, s-a ajuns la intervenție chirurgicală, laparatomia exploratorie depistînd un exudat lăptos în cavitatea peritoneală (3).

Tangent cu episoadele dureroase abdominale, s-a adus în discuție și pancreatita (3). Nu se poate preciza dacă ea precede sau apare în timpul HLP.

B. STIGMATELE DERMATOLOGICE

În HLP familiale tip I sînt caracteristice xantomele eruptive cu distribuție fesieră, genunchi, față dorsală a antebrațului sau mucoase. Sînt formate dintr-o bază eritematoasă de 1—2 mm pe care este supradenivelat un nodul mic galben (3). Uneori apar vezicule mici cu conținut lăptos (Hold, Bürger, Grütz, citați de 3). Apariția xantomelor eruptive

este determinată de creşterea bruscă a trigliceridelor serice peste 2 000 mg%. Hipertrigliceridemiile masive, dar cronice, nu sînt însoţite de acest tip de xantome (3). Este frecvent întîlnită în HLP tip I şi lipemia *retinalis*. Explicaţia ei apare în contextul tulburărilor biochimice care au fost amintite (hiper-TG), motiv pentru care apare şi în alte forme de HLP.

Nu se evidenţiază simptoame din partea aparatului cardio-vascular (3).

VI.1.3. TABLOUL BIOCHIMIC

A. LIPIDE ŞI LIPOPROTEINE PLASMATICE

În aprecierea lipidelor şi lipoproteinelor plasmatice din HLP familiale tip I, sînt valabile criteriile recomandate de memorandumul O.M.S. (1).

Hiper TG enormă, nu are valoare diagnostică. În schimb, „testul chilomicronilor" intens pozitiv are o importanţă deosebită (3). Colesterolul seric este normal alături de valorile foarte crescute ale TG serice ; creşteri moderate se produc concomitent cu creşterea valorilor TG. Raportul C/TG se menţine subunitar (<0,2), caracteristic acestei boli îi sînt scăderile C/TG sub 0,1 (1,3). Colesterolul esterificat este în proporţie normală, iar AGL în concentraţie redusă (6).

Paralel cu hiperchilomicronemia masivă, se remarcă scăderea LDL şi HDL care probabil, se agregă cu chilomicronii pierzîndu-şi proprietăţile electroforetice şi de flotaţie. Scăderea concentraţiei HDL are loc chiar în cazul alimentaţiei „zero lipidice" de lungă durată (fenomen inexplicabil) (3).

VLDL sînt moderat crescute, mai ales în circumstanţe legate de substituţia glucidică izocalorică a lipidelor alimentare (3).

Dieta „zero lipidică" reduce spectacular nivelul lipidelor şi lipoproteinelor serice, fiind considerată chiar o etapă de diagnostic (3). În tabelul VI.1 redăm valorile lipidelor şi lipoproteinelor serice în HLP familiale tip I.

Tabelul VI.1

Lipidele şi lipoproteinele plasmatice la 6 bolnavi cu diagnosticul de hiperlipoproteinemie familială tip I. Se remarcă efectul favorabil al dietei „o lipidice" (după Fredrickson şi Levy – 3)

Nr. bolnavilor	Vîrsta în ani	Trigliceride plasmatice mg %	Colesterol mg %			
			plasmă	VLDL şi CHILO	LDL	HDL
		Alimentaţie normală				
6	10–36	4 035	320	285	22	12
		Alimentaţie „o lipidică"				
6	10–36	296	133	58	53	15

B. ACTIVITATEA LPL ; ALTE MODIFICĂRI UMORALE

Activitatea trigliceridlipazei este scăzută. Menționăm ca obligatorie, determinarea ei în condițiile unei diete calitativ și cantitativ normale (3).

Leucocitoza se modifică în timpul episoadelor dureroase abdominale. Amilazemia și amilazuria sînt normale (3). Explorarea funcțională hepatică relevă aspecte normale. Toleranța la glucoză este normală (3).

VI.1.4. CRITERII DIAGNOSTICE

Pentru identificarea fenotipului trebuie respectate următoarele criterii (3).

a) *Homozigotul.* — *criterii majore :* — tipul lipoproteinic I ;

— deficiența activității triglicerid lipazei plasmatice ;

— *criterii minore* (sînt de ajutor, dar nu de valoare diagnostică) :

— tipul lipoproteinic I este relativ ;

— apariția episoadelor dureroase abdominale recurente, xantome eruptive și pancreatita, înaintea vîrstei de 20 de ani ;

— testul dietetic „zero lipidic" produce dispariția chilomicronilor în 5 zile, scăderea trigliceridelor în jurul cifrei de 400 mg %, creșterea moderată a VLDL (mai redusă ca în HLP familială tip V) și a HDL (care rămîn însă sub nivelul normal) ;

— excluderea fenocopiilor.

b) *Heterozigotul.* Identificarea fenotipurilor heterozigoți este dificilă, deoarece nu dispunem de un test fidel prin care să efectuăm aceasta. Acțiunea este îngreuiată de faptul că la mulți părinți (heterozigoți certi), lipidele, lipoproteinele și activitatea LPL sînt normale (3).

În concluzie, se poate afirma că nu există nici un test cu caracter definitoriu absolut al fenotipurilor homo- sau heterozigoți (3).

Pentru excluderea fenocopiilor trebuie avut în vedere incidența hiper TG în cadrul unor boli ca : diabet zaharat, disglobulinemii, lupus eritematos diseminat, pancreatite, hipotiroidism, terapia cu anticoncepționale (3).

VI.1.5. PATOLOGIE BIOCHIMICĂ ȘI FIZIOPATOLOGIE

Hiperchilomicronemia este rezultanta dezechilibrului cinetic de tip excedentar în care secvența „input" este mai mare decît secvența „output". Această finalitate patometabolică este consecința tulburării metabolismului chilomicronic, teoretic, cel puțin la 3 nivele :

— supraproducție chilomicronică ;

— deficit de eliminare datorită insuficienței sistemului LPL ;

— deficit de eliminare datorită unor chilomicroni patologici.

Scanned with OKEN Scanner

Prima și ultima eventualitate sînt excluse pînă în momentul de față, deoarece s-a demonstrat că digestia și absorbția chilomicronilor sînt normale în HLP familială tip I (3). Chilomicronii din această boală sînt, probabil, de structură și compoziție normală, deoarece eliminarea lor din plasma subiecților normali nu este afectată (5).

În virtutea acestor fapte, pregnanța cercetărilor vizînd patogenia hiperchilomicronemiei, are ca adresabilitate activitatea LPL în cadrul secvenței „input". Astăzi se recunoaște o scădere a activității trigliceridlipazei (în cadrul complexului LPL), în HLP familiale tip I. Diferențierea activității trigliceridlipazei hepatice și extrahepatice, dat fiind caracterul ei foarte recent, nu s-a putut studia la prea mulți bolnavi. Oricum însă, activitatea mono- și digliceridlipazei este normală (25—27).

Nu s-a evidențiat prezența inhibitorilor patologici ai LPL în plasma bolnavilor cu HLP familială tip I (3, 5).

Problema deficitului activatorilor apoproteinici ai LPL în HL familială tip I a fost enunțată de Havel și colab. (29), La Rosa și colab. (30). Această problemă se află încă în curs de studiu. La doi bolnavi cu acest tip de HLP familială s-au demonstrat concentrații normale ale apo-VLDL, apo-LP-val, apo-LP-glu și apo-LP-ala, ele avînd chiar proprietăți activatoare asupra LPL din țesutul adipos.

Alte posibilități patogenetice vizînd hiperchilomicronemia din HLP tip I ar fi :

— se presupune, un mecanism subsidiar, existența tulburărilor tisulare în reesterificarea AGL (3). Deși concentrația scăzută a AGL ar contrazice această ipoteză, ea nu poate fi exclusă. În sprijinul ei ar veni și foarte recenta comunicare a lui Carlson și colab. (28), în care se invocă perturbarea încorporării AGL în țesutul adipos, mecanism posibil al unei hiperchilomicronemii masive, cu activitate LPL normală dar AGL serici crescuți. Asociat prezintă diabet zaharat (probabil HLP tip V) ;

— comportarea VLDL și HDL în acest tip de HLP, nu poate fi explicată cel puțin pînă în momentul de față (3). Bazați pe relația lor cu activitatea LPL, s-ar putea ca dezechilibrul între necesitățile de LPL datorită hiperchilomicronemiei masive și HDL redusă permanent să sugereze noi mecanisme patogenetice de finețe ;

— în sfîrșit, insuficiența episodică a LPL ar fi responsabilă de HLP familială tip I „intermitente" (3, 7).

FIZIOPATOLOGIE

Consecința fiziopatologică a dezechilibrului secvențial cinetic de tip excedentar („input" mai mare decît „output") este hiperchilomicronemia variabilă cantitativ. Ea determină lactescența serului recoltat proaspăt sau separarea stratului cremos și a infranatantului clar în serul observat timp de 12 ore la +4° (testul chilomicronilor).

În lipsa activității LPL eficiente, celulele endoteliale sau alte celule fagocitare (predominant histiocitele) fagocitează chilomicronii. Acesta este un mecanism important al *clearence*-ului chilomicronilor din circu-

laţia bolnavilor cu HLP tip I familială (31). Activitatea de fagocitare a chilomicronilor a fost demonstrată în celulele endoteliale dermice (se observă acumulare masivă de gliceride, colesterol, fosfolipide, determinînd în cele din urmă formarea xantomelor eruptive), în celulele periteliale reticulare şi endoteliale din dermă, celulele reticulo-endoteliale din ficat, splină, măduvă osoasă (3). Scăderea chilomicronilor plasmatici are drept consecinţă reducerea gliceridelor şi esterificarea colesterolului intracelular (3).

În ficat, splină, măduvă, formarea celulelor spumoase din histiocite este un fenomen de mare intensitate în HLP tip I familială, care produce în cele din urmă hepato- şi splenomegalie. În figura VI.1, Ferrannus şi colab. (31) redau etapele acestui proces în măduva osoasă sternală la un bolnav cu HLP familială tip I.

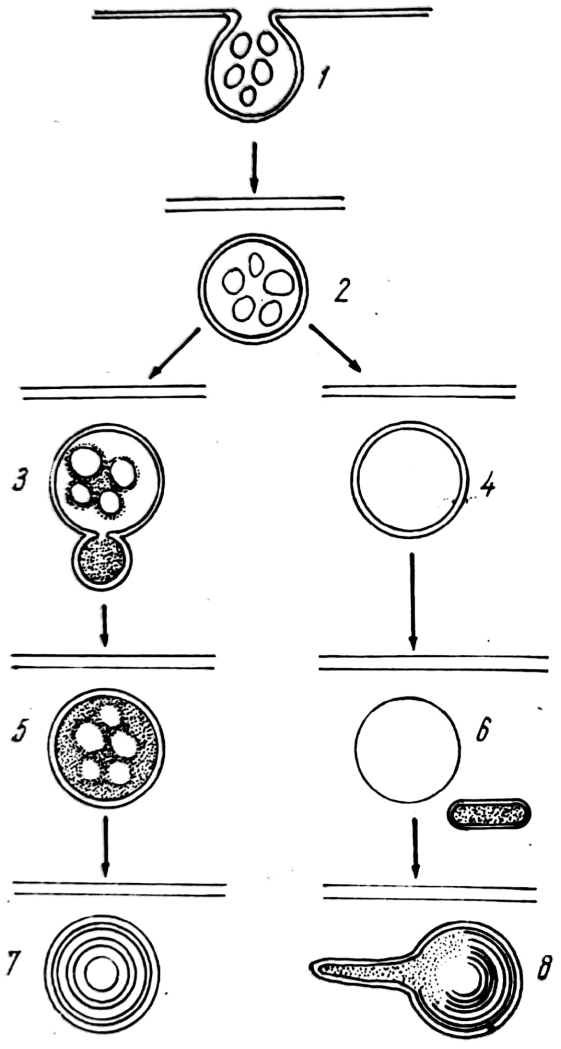


Fig. VI.1. — Transformarea chilomicronilor în celule fagocitare (după Ferrannus şi colab., 31).

1 – invaginarea membranei plasmatice ; 2 – vacuole fagocitare ; 3 – fuziunea cu lisosomul primar ; 4 – coalescenţa lipidelor ; 5 – lisosomul secundar ; 6 – pierderea membranei lipidice ; 7 – corp rezidual (ceroid) ; 8 – formarea corpului rezidual (ceroid) din reticulul endoplasmatic fin.

Celulele spumoase se formează ca rezultantă a fagocitării, de către histocite, a unui număr mare de chilomicroni. Veziculele gliceridice, formate prin fagocitare, se pot uni cu lizozomul primar pentru a forma lizozomul secundar, fie în urma pierderii membranei veziculare mici, fie prin coalescenţă, dînd naştere unei mari vezicule care se ataşează de reticolul endoplasmatic.

În cursul acestor etape, chilomicronii sînt metabolizaţi treptat, formîndu-se astfel ceroidul.

Această acumulare lipidică, urmată de metabolizarea treptată, induce diferite aspecte morfologice ale celulelor spumoase (31) :

— celulele cu cantitate mare de gliceride sînt de volum crescut, cu picături lipidice birefringente, dar cu autofluorescenţă redusă ;

— celulele care sînt pe cale de acumulare a ceroidului se reduc în volum, îşi pierd treptat birefringenţa, concomitent cu creşterea autofluorescenţei (31).

Deşi lizozomul este implicat în formarea celulelor spumoase, se consideră că HLP familială tip I nu este o „anomalie lizozomială“ (3).

Unul din aspectele fiziopatologice ale HLP familială tip I, neelucidat pînă în prezent, este explicarea mecanismelor durerilor abdominale și a pancreatitei. Deși vom relua problema, redăm cîteva postulări interpretative :

— durerile abdominale, ar fi consecința distensiei brusce a capsulei hepatice și a celei splenice (HOLD, citat de 3) ;

— Ahrens (citat de 3), presupune blocarea ductului toracic de către conglomeratul chilomicronic, urmată de distensia lui ;

— invocînd prezența efuziunilor bogate în trigliceride și lipaze, în vecinătatea pancreasului, Hudson (32) atribuie emboliei grase în pancreas rolul determinant al tabloului algic din HLP familială tip I ;

— este interesantă și observația lui Ahrens (citat de 3), care remarcă, cu ocazia unei autopsii la un bolnav cu HLP tip I, modificări pericardice și pancreatice.

Un alt aspect deosebit de important, legat de consecințele fiziopatologice ale hiperchilomicronemiei, a fost recent demonstrat de Ditzel (133). Este vorba de tulburarea oxigenării tisulare, evidențiată la bolnavii cu HLP familială tip I și HLP tip V familială sau cîștigată. Anomalia s-ar datora interferării chilomicronilor aflați în exces, cu transportul oxigenului. Implicațiile observației sînt deosebite, deoarece ne atenționează, pe de o parte, asupra efectelor nocive ale HLP la nivelul microcirculației, iar, pe de altă parte, explică pericolul hiperlipemiei postprandiale, la bolnavii coronarieni.

VI.1.6. ANATOMIE PATOLOGICĂ

Cele cîteva cazuri de autopsii, efectuate la adulți decedați cu pancreatită în cadrul HLP familială tip I, au relevat modificări pancreatice descrise anterior și lipsa unor modificări convingătoare ale aparatului cardiovascular (3, 32, Ahrens, citat de 3).

VI.1.7. GENETICĂ

HLP familială tip 1 este expresia unei doze duble de alelă autosomală (tip autosomal recesiv). Este posibilă existența mai multor mutații în cadrul aceluiași fenotip (3). Heterozigoții prezumtivi (părinții) sînt adesea normali, alteori li se depistează modificări „la limită" ale LPL și trigliceridelor plasmatice (3).

Boala este foarte rară. Pînă în prezent nu sînt dovezi ale transmisiei sale „verticale" și nici de creștere a consangvinității în acest tip de HLP. În cadrul aceleiași familii, se consemnează existența HLP tip I, IV sau V (3).

VI.2. HIPERLIPOPROTEINEMIA FAMILIALĂ TIP II

(Sinonime : hipercolesterolemia familială esenţială, xantomatoza hipercolesterolemică esenţial familială, *xantoma tuberosum, xantoma tendinosum, familial xantoma, xantoma tuberosum multiplex).*

VI.2.1. CADRUL NOSOLOGIC

HLP familială tip II este o boală înnăscută, caracterizată prin creşterea concentraţiei plasmatice a LDL (beta-LP). În cadrul acestui tip se recunosc două subtipuri : subtipul II a, în care creşterea LDL este singulară, şi subtipul II b, în care, paralel cu augmentarea LDL, cresc şi VLDL normale (1, 3). În ambele circumstanţe deosebim fenotipi homo- şi heterozigoţi (3).

Istoria HLP familială tip II se confundă de fapt cu istoria xantoamelor. Prima descriere aparţine lui Rayner în anul 1835 (citat de 3), urmat de Addison şi Gull (citat de 3) care vorbesc şi despre *xantoma diabeticorum.* Spre sfîrşitul secolului trecut se descrie *xanatoma tuberosum multiplex* care se dovedeşte a fi stigmatul HLP familiale aşa cum intuiesc, în anul 1920, Burns, Arning şi Lippman (citat de 3). Thannhauser (citat de 3) defineşte pentru prima dată, în anul 1950, xantomatoza hipercolesterolemică familială (esenţială sau idiopatică), iar din acelaşi an, Wilkinsson (citat de 3) denumeşte această anomalie „hipercolesterolemie familială esenţială". Ulterior, denumirea este înlocuită prin aceea de „hiperbetalipoproteinemie" (3). Abordarea taxonomică a HP-HLP, efectuată de Fredrickson, încadrează anomalia în tipul II, iar grupul de experţi ai O.M.S.-ului subdivizează tipul II în cele două subtipuri amintite.

VI.2.2. TABLOUL CLINIC

În fenotipul homozigot, hiper LDL este prezentă la naştere, fiind diagnosticată şi din sîngele ombilical (33, 34). La heterozigoţi, certitudinea diagnosticului o avem după un an de la naştere. Oricum, debutul clinic se conturează mai tîrziu (luni, ani), dar nedepăşind prima copilărie (2, 3, 6, 7, 8, 17—21,35—42). Tabloul clinic este dominat de stigmatele dermatologice, arcul cornean, patologia cardiovasculară precoce şi mai rar de poliartrită (tabelul VI.2). Obezitatea este prezentă cu o frecvenţă variată.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul VI.2

Principalele manifestări clinice ale bolnavilor cu HLP familială tip II a şi II b

Tipul HLP	Cardiopatie ischemică	Arteriopatie periferică ocluzivă	Hipertensiune arterială	Litiază biliară	Arteriopatii	Xantome			Xantelasme	Arc cornean	Hepatosplenomegalie	Obezitate supraponderе
						Tendinoase	Tuberoase	Planare				
II a 347	81 %	32 %	62 %	5 %	12 %	48 %	3 %	4 %	93 %	81 %	7 %	7 %
II b 111	84 %	35 %	79 %	7 %	14 %	11 %	1 %	1 %	68 %	42 %	12 %	26 %

A. XANTOMATOZA

În HLP familială tip II apar următoarele tipuri de xantome : tendinoase (tendonul Ahile, extensorii mîinii), tuberoase (la coate), planrare (fese, mîini), palpebrale (xantelasme) (fig. VI.2), subperiostale (genunchi şi olecran) (3).

Fig. VI.2. — Xantelasme la o bolnavă cu HLP familială tip IIa (heterozigot).

Apariţia şi evoluţia lor este influenţată de : vîrstă, fenotip, severitatea şi durata hiper LDL, motilitatea regiunii topografice respective (3).

La homozigoţi, xantomatoza este foarte frecventă şi severă, apărînd chiar la naştere (3, 43).

Xantomatoza este considerată de mulţi autori definitorie pentru forma familială a HLP, deşi poate apărea şi în formele secundare (3).

S-au descris cazuri de xantome tendinoase familiale, fără HLP (3, 44).

Arcul corneean (gerontoxonul). La homozigoţi apare înaintea vîrstei de 10 ani (3), iar la heterozigoţi pînă la 40 de ani. Conform indicaţiilor O.M.S. (1), după vîrsta de 40 de ani, arcul cornean nu este un indicator al HLP. Trebuie menţionat faptul că atît xantelasmele, cît şi arcul cornean se pot observa la subiecţi cu spectrul lipidic şi lipoproteinic plasmatic normal (3).

B. PATOLOGIA CARDIO-VASCULARĂ

Afectarea cardio-vasculară este precoce, severă şi variată ca manifestare clinică, avînd ca substrat ateroscleroza vaselor mari şi mijlocii, în special consecutivă infiltraţiilor xantomatoase de la nivelul vaselor mari şi mijlocii. Formele clinice majore prin care se manifestă patologia cardiovasculară sînt : cardiopatia ischemică (infarct miocardic, angină pectorală, sindrom miocardic cu, sau fără, insuficienţă cardiacă), sindrom de ischemie periferică, mezenterică, hipertensiune arterială şi mai rar boală cerebrovasculară (45).

La homozigoţi, patologia cardio-vasculară apare, pe plan clinic, pînă la vîrsta de 20 de ani, iar la heterozigoţi, în jurul vîrstei de 40 de ani (3). Pentru diagnosticul formelor sale clinice, trebuie utilizate toate posibilităţile clinice şi paraclinice disponibile. Imperativul precocităţii diagnosticului credem că nu mai necesită justificare.

Pînă în prezent s-au comunicat multe studii referitoare la prevalenţa bolii cardio-vasculare în HLP familiale tip II (a şi b) (46—50). Rezultatele sînt variate datorită metodologiei variate, convergînd însă spre ideea creşterii riscului cardiopatiei ischemice prin hipercolesterolemie şi hiper-beta-LP (39).

Un prim studiu longitudinal se referă la observarea timp de 20 de ani, a 331 de subiecţi (rudele a 11 copii cu HLP tip II a) (47). Dintre ei, 181 au avut hipercolesterolemie definitivă. La 1/3 din aceştia s-a evidenţiat boală arterială coronariană, spre deosebire de 1,3% cît a fost procentul depistării cardiopatiei la cei al căror colesterol seric era mai mic decît 300 mg %. Incidenţa morţii subite la grupul hipercolesterolemicilor a fost de 2,18 ori mai mare decît la normocolesterolemici.

Studiul retrospectiv efectuat de Joan Slack (46) se referă la 60 de rudenii de gradul I aparţinînd la 44 de copii cu HLP tip II a (s-au exclus cazurile cu trigliceride mai mari de 200 mg %). Se evidenţiază creşterea marcată a riscului bolii arteriale coronariene mai mult la bărbaţi decît la femei, în funcţie de vîrstă, astfel :

— la bărbaţi, pînă la 40 de ani riscul cardiopatiei este de 23,7%, între 40 şi 60 de ani creşte la 45,4%, în timp ce riscul mortalităţii este de 54,1% ;

— la femei, pînă la 60 de ani, cifrele reprezentînd aceiaşi parametri sînt de 57,5% şi respectiv, 15,4%.

Utilizarea testului Master, creşte precocitatea diagnosticului cardiopatiei, aşa cum a demonstrat Guravitch la 9 din 16 bolnavi cu xantomatoză hipercolesterolemică (51).

La concluzii oarecum diferite, ajunge Harlan și colab. (52), care infirmă precocitatea leziunilor cardio-vasculare în HLP tip II a.

Un studiu extensiv și foarte riguros este comunicat recent de echipa din Bethesda (39). Se investighează statusul lipidic și lipoproteinic și cel cardiac, la 1 000 de subiecți, rudenii de gradul I—III, a 114 copii cu HLP familială tip II a (trigliceridele plasmatice fiind mai mici de 140 mg %). Se apreciază că la rudeniile cu hipercolesterolemie, boala coronariană arterială este prezentă în 29,5% din cazuri, spre deosebire de 10,5% din cazurile rudeniilor cu normocolesterolemie. În cadrul lor, angina pectorală a fost prezentă în 6% din cazuri în primul grup și în 1% din cazuri în grupul II. Moartea subită și infarctul miocardic, au survenit în proporție de 10,1% în grupul hipercolesterolemicilor, comparativ cu grupul normocolesterolemicilor, unde incidența a fost de 1,8%.

Diferențierea probabilității cumulative a cardiopatiei, fatale sau nefatale, în funcție de sex, vîrstă și colesterolemie, este apreciată astfel :

— la grupul de vîrstă 40 de ani (bărbați hipercolesterolemici) probabilitatea cardiopatiei este de 16%, crescînd la 52% în cazul vîrstei de 60 de ani, în timp ce normocolesterolemicii de aceeași vîrstă au o probabilitate de numai 12,7% ;

— la femeile de 60 de ani cu hipercolesterolemie, probabilitatea este de 32,8% comparativ cu grupul normocolesterolemicelor, unde probabilitatea este de 9,1%.

Am redat în detaliu aceste rezultate, deoarece acuratețea studiului girează certitudinea afirmării rolului hipercolesterolemiei în creșterea riscului cardiopatiei coronariene nu numai în cazul fenotipilor homozigoți, dar chiar și în cel al heterozigoților, comparativ cu populația sănătoasă.

C. POLIARTRITA

Este comunicată cu o frecvență mult mai redusă decît xantomatoza sau complicațiile cardio-vasculare (3, 35). Se caracterizează prin atacuri tranzitorii de artrită care afectează articulațiile genunchilor și ale mîinilor cu o durată de cîteva zile, suficient însă pentru a crea confuzii cu un atac de reumatism poliarticular acut. La aceasta se adaugă : febra, leucocitoza și creșterea V.S.H. și, mai ales, suflurile cardiace aterosclerotice greșit interpretate (3, 39, 53, 54).

VI.2.3. TABLOUL BIOCHIMIC

A. LIPIDE ȘI LIPOPROTEINE PLASMATICE

Spectrul lipidic și lipoproteinic plasmatic la bolnavii cu HLP familială tip II a și II b, dispensarizați la centrul nostru, este redat în tabelul VI.3 și VI.4.

— Amprenta diagnostică este furnizată de concentrația colesterolului din LDL care depășește cu mult valorile normale, anomalia fiind mai frecventă la homozigoți, decît la heterozigoți.

Tabelul VI.3

Spectrul lipidic şi lipoproteinic plasmatic la bolnavii cu HLP familială tip II a

Grupe de vîrstă (ani)	Nr.	Colesterol, mg %				Trigliceride, mg %
		Plasma	VLDL	LDL	HDL	
Homozigoţi	14	539±39	16±5,1	284±16	38±3,2	144±5,4
Heterozigoţi	333	—	—	—	—	—
20–29	3	306±11	10±2,2	260±8,8	32±2,7	136±5,2
30–39	19	283±10	12±3,3	238±10	31±4,5	128±10
40–49	97	291±6,3	12±3,4	250±12	28±5,2	134±5,1
50–59	108	299±5,0	11±2,3	251±13	31±3,9	142±7,3
>60	106	302±4,3	12±2,4	257±13	31±3,4	145±5,4
Total	347					

Tabelul VI.4

Spectrul lipidic şi lipoproteinic plasmatic la bolnavii cu HLP familială tip II b

Grupe de vîrstă (ani)	Nr.	Colesterol, mg %				Trigliceride, mg %
		Plasma	VLDL	LDL	HDL	
Ho nozigoţi	9	323±8,3	29±1,6	258±9,4	32±2,4	229±8,9
Heterozigoţi	102	—	—	—	—	—
1–19	1	301	29	240	30	211
20–29	1	306	30	241	31	206
30–39	9	283±18	26±0,9	237±7,5	18±3,2	198±13
40–49	25	310±12	30±2,4	252±9,3	24±1,3	207±16
50–59	30	310±9,1	32±3,1	259±11	16±2,2	215±7,8
60	36	316±8,6	32±3,6	257±12	20±3,7	225±111
Total	111					

Colesterolul plasmatic total este mai puţin fidel decît colesterolul LDL, chiar şi la subiecţii tineri.

— Trigliceridele nu sînt modificate în HLP familială tip II a, în timp ce VLDL sînt chiar scăzute. În tipul II b, trigliceridele sînt crescute, paralel cu VLDL.

— AGL nu sînt modificaţi (3).

— Fosfolipidele totale sînt crescute la homo- şi heterozigoţi cu HLP familială tip II a. Studiul fracţiunilor fosfolipidice relevă creşterea sfingomielinei în HLP tip II a, în timp ce în tipul II b este normală. În HLP tip II b, fosfolipidele totale şi sfingomielina sînt normale, iar fosfatidilcolina este scăzută în ambele tipuri (55).

— HDL sînt scăzute (3).

Scanned with OKEN Scanner

B. TOLERANȚA LA GLUCIDE ȘI ALTE TULBURĂRI

Toleranța la glucide, în cea mai mare parte din cazuri, este normală (3, 52). Glueck și colab. (56), utilizînd criterii standard, apreciază scăderea toleranței la glucide în 33% din cazurile de heterozigoți cu HLP familială tip II (a + b), fără a exista diferențe semnificative statistice față de grupul martor.

Mejean și colab. (126) au investigat toleranța la glucoză și IRI, la 42 de bolnavi cu HLP familială tip II a. Se evidențiază, cu acest prilej, diabet zaharat chimic în 27% din cazurile de hipercolesterolemici normoponderali și la 42% din bolnavii obezi unde, în 68% din cazuri, s-a depistat și hiperinsulinism. În grupul normoponderalilor, hiperinsulinismul este prezent cu o frecvență de 43%. Se conchide că riscul diabetogen este mai mare la bolnavii cu HLP familială tip II a, comparativ cu populația sănătoasă. Probabil că hiperinsulinismul precede scăderea toleranței la glucide.

— Uricemia este normală (3).

— Creșterea V.S.H. este datorată creșterii LDL (57).

VI.2.4. CRITERII DIAGNOSTICE

În diagnosticul HLP familiale tip II am utilizat următoarele criterii:

a) *Pentru homozigoții tip II a.* Hiperlipoproteinemie de tip II a, cu creșterea concentrației LDL peste 250 mg %;

— evidențierea la ambii părinți a aceleiași anomalii;

— patologie cardio-vasculară foarte precoce (→20 ani);

— colesterolemia care depășește valori de 330 mg % la adulți, sau 250 mg % pînă la vîrsta de 20 de ani.

b) *Pentru heterozigoții tip II a.* Hiperlipoproteinemie de tip II a;

— evidențierea aceleiași anomalii la rudenii de gradul I;

— prezența xantomelor tendinoase;

— concentrație LDL serice mai mare de 180 mg % la adulți și peste 120 mg % sub vîrsta de 20 de ani; colesterolemia este mai mare de 300 mg % la adulți și peste 250 mg % sub vîrsta de 20 de ani.

c) *Pentru homo- și heterozigoții tip II b.* Criteriile de mai sus, la care se adaugă hipertrigliceridemia (peste 200 mg %) și hiper VLDL serică (peste 50 mg %).

d) *Excluderea fenocopiilor* trebuie efectuată în toate cele patru cazuri de mai sus.

VI.2.5. PATOLOGIE BIOCHIMICĂ. FIZIOPATOLOGIE

Patogeneza HLP familiale tip II a și b este încă nedescifrată. Sintetizînd majoritatea datelor de pînă acum în acest domeniu, ne convingem de diversitatea lor adesea controversată, cît și de lipsa, aproape totală, a

unei explicații patogenetice diferențiate în HLP tip II a și II b. În ultimă instanță, cauza hiper LDL ± hiper VLDL este un dezechilibru cinetic în care secvența „input" este mai mare decît secvența „output". Această finalitate patobiochimică este consecința perturbării controlului poligenic al metabolismului acestor lipoproteine, la cel puțin trei nivele principale :

— supraproducție lipoproteică ;
— deficit de catabolism lipoproteic ;
— prezența unor anomalii în macromolecula LDL și/sau VLDL.

A. COMPOZIȚIA CHIMICĂ A LDL ÎN HLP TIP II

În HLP familială tip II a, cresc predominant LDL, subclasa cu Sf 0—12, avînd densitatea cuprinsă între 1,018 și 1,063 g/ml. Acestea au drept componenți principali : colesterol liber, colesterol esterificat, fosfolipide și apoproteine. Mult timp s-a crezut că macromoleculele LDL în acest tip de HLP nu sînt diferite față de normali (3, 62). Astfel, Gotto și colab. (58) demonstrează că între apoproteinele majore din VLDL și LDL la normali și HLP tip II nu există diferențe din punctul de vedere al compoziției aminoacizilor, spectrul dicroic-circular și proprietăți imunochimice. Totuși, autorii nu exclud prezența unor anomalii de finețe în secvența aminoacidică (58). Aceeași lipsă de diferență se remarcă și în cazul colesterolului liber, esterificat, a fosfolipidelor sau a raportului lipide/proteine în molecula LDL (3).

Acestor afirmații li se opun cele care demonstrează existența unor diferențe între macromolecula LDL la normali sau bolnavi cu HLP tip II a.

— Beaumont și colab. (59) evidențiază, în LDL provenite de la pacienți cu hipercolesterolemie familială xantomatoasă, creșterea concentrației de colesterol și fosfolipide, sugerînd în același timp, anomalii structurale apoproteice.

— Joan Slack și Mills (60—63) constată scăderea concentrației de trigliceride în LDL de la bolnavii cu hiperbeta-LP netratați, unde postulează existența unor anomalii în legăturile chimice ale constituenților săi.

— Grand și Sheppart (61) relevă la pacienți cu hiperbeta-LP, scăderea constantei dielectrice, consecutivă creșterii hidratării macromoleculei LDL. Anomalia este mai accentuată la homozigoți comparativ cu heterozigoții.

— Lee (64) demonstrează la pacienți cu HLP tip II modificări ale LDL_1 și LDL_2 unde apoproteinele se găsesc în concentrație de două ori mai mare față de normali.

— Yasugi și colab. (130) evidențiază la bolnavii cu HLP familială tip II a și tip IV modificări ale compoziției apoproteinelor în aminoacizi, deși nu constată și diferențe de comportament imunologic.

Indiscutabil că macromolecula LDL din HLP familială tip II a este modificată față de cea provenită de la subiecți normali. Totuși, precizări de finețe se impun pentru a se putea atribui acestor anomalii rol în geneza bolii, deoarece ar fi posibilă și interpretarea lor drept o consecință a tulburărilor metabolice primare.

B. METABOLISMUL COLESTEROLULUI ÎN HLP TIP II

Absorbția colesterolului în HLP tip II se consideră a fi normală (66), deși afirmația necesită confirmări (67). Moufafis și Myand (68) demonstrează, la pacienți cu acest tip de HLP, scăderea procesului de absorbție a colesterolului la 47% în cazul unei alimentații hipocolesterolemiante (260 mg colesterol/24 ore) la 8% în cazul unei alimentații hipercolesterolemiante (3 g colesterol/24 ore). Alți autori infirmă aceasta (67).

Sinteza hepatică a colesterolului în HLP tip II este crescută, ca urmare a tulburării *feed-back*-ului negativ normal (inhibiția sintezei în cazul aportului alimentar crescut). Moutafis (68), ajunge la aceeași concluzie în cazul experimentului descris anterior : creșterea aportului alimentar de colesterol la pacienții cu HLP tip II a nu inhiba sinteza colesterolului în ficat. Creșterea sintezei de colesterol este mai mare în cazul asociației hipercolesterolemiei + hipertrigliceridemie (HLP tip II b), (Sodhy și colab. 70).

Pentru explicarea acestei anomalii se aduce în discuție corelația lipido-protidică hepatică și corelația colesterol-trigliceride-pondere. Prima corelație ni se pare în cazul nostru cea mai plauzibilă. Lipsa corelației semnificativ statistice între colesterol-trigliceride-suprapondere, în cazurile studiate de Sodhy și colab., infirmă rolul acesteia (a obezității) în explicarea fenomenelor, sau în geneza hipercolesterolemiei din HLP tip II a și II b.

Aplicînd teoria „receptorilor specifici" (Capitolul III) la studiul patogeniei HLP familială tip II a, Goldstein și Brown (127, 134) explică astfel mecanismul de producere al hiper LDL și hipercolesterolemiei (fig. V.3).

În HLP familială tip II a, receptorii membranari specifici pentru LDL sînt reduși numeric (în formele heterozigote), sau chiar absenți (în formele homozigote). Consecința acestei anomalii este deficitul de legare a LDL, avînd drept urmare :

— pe de o parte, suprimarea *feed-back*-ului negativ prin care se inhibă HMG reductaza și colesterolosinteza intracelulară ;

— pe de altă parte, degradarea insuficientă a LDL.

Rezultatul este o acumulare crescută de colesterol și LDL în sînge și țesuturi.

Fenomenul descris de Goldstein și Brown are o importanță excepțională, deoarece se întrevăd și posibilități terapeutice de corectare a anomaliei. Astfel, s-a demonstrat că o serie de substanțe inhibă HMG reductaza, mult mai prompt și mai eficient decît LDL extracelulare, fiind activi chiar și în formele homozigote, unde eficiența LDL este nulă. Este vorba de :

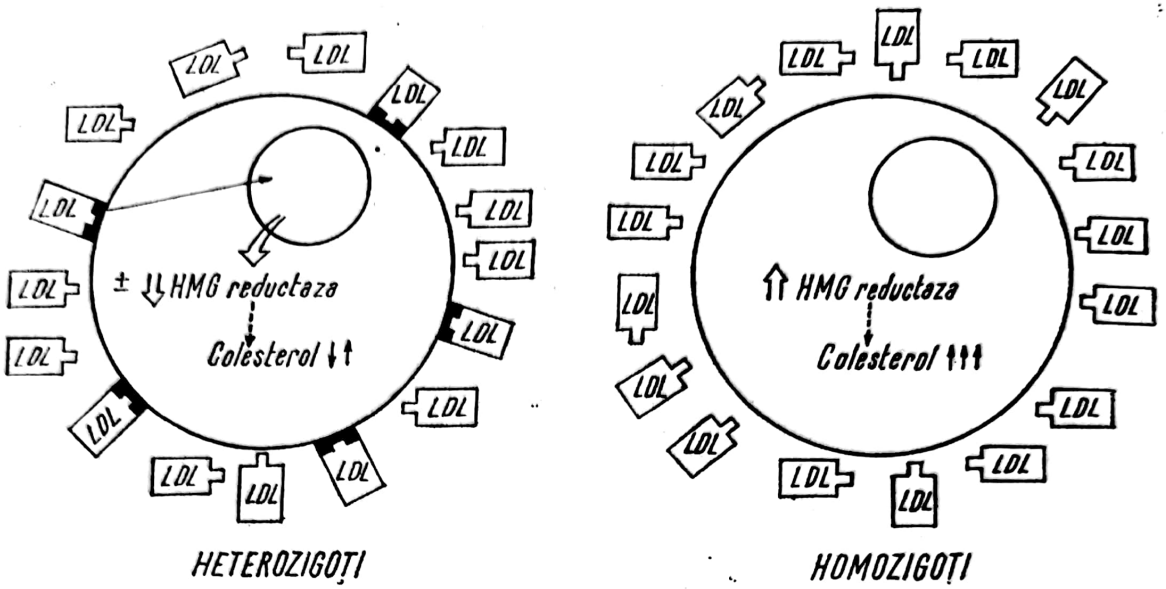
— 7 *cetocolesterol,*

— 6 *cetocolestanol,*

— 25 *hidroxicolesterol.*

Există, deci, premise ca, în scurt timp, să fim beneficiarii unui nou medicament hipocolesterolemiant.

Scanned with OKEN Scanner



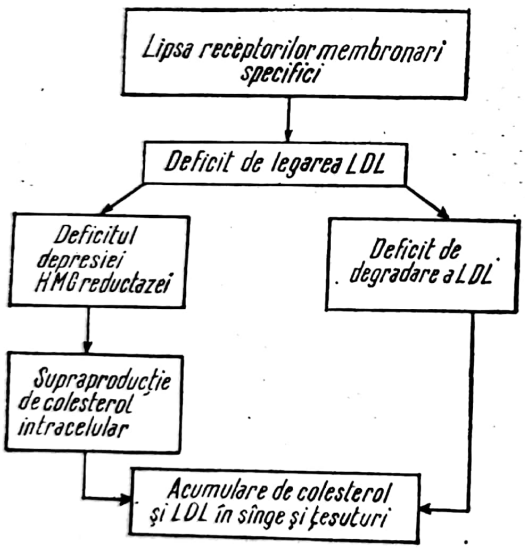


Fig. VI.3 — Mecanismele de producere a hiper LDL și a hipercolesterolemiei în HLP tip II a (normo- și heterozigoți) (după Goldstein și Brown — 127, 134).

Autorii presupun că defectul genetic primar este situat la nivelul unei gene încă neidentificate, care mediază controlul lipoproteinelor prin mecanisme *feed-back*.

— Perturbarea celor două modalități majore de eliminare a colesterolului, ca steroli neutri sau acizi, a fost invocată în geneza HLP tip II ; Miettinen (72) presupune un bloc în sinteza acizilor biliari ; Sodhy și colab. (73) nu contrazic acest punct de vedere și, pe baza unor cercetări de mare finețe, evidențiază că de fapt în HLP este vorba de afectarea

celei de a doua căi de eliminare, adică sub forma sterolilor neutri. În același timp, cantitatea colesterolului, care intră în ficat în *pool*-ul catabolic, este mai mare la pacienții cu hipercolesterolemie + hipertrigliceridemie, decît la cei cu hipercolesterolemie pură. Moutafis și Myand (68) confirmă indirect aceste cercetări. Ei demonstrează, cu ocazia experimentului descris anterior, că o creștere a colesterolului în alimentație nu modifică eliminarea sterolilor neutri, în timp ce eliminarea acizilor biliari este crescută. Totuși, comparînd acest ultim efect cu cel obținut în cazul dietei hipocolesterolemiante (scăderea eliminării acizilor biliari) nu se remarcă o diferență semnificativ statistică. Este vorba deci de o inerție a secvenței „catabolice" a metabolismului colesterolului. În accepția unei suprasarcini catabolice a colesterolului se observă o saturare mai rapidă a căii de sinteză a acidului chenodezoxicolic, comparativ cu calea de sinteză a acidului colic (74).

— Un serial de interesante lucrări, vizînd cinetica acizilor biliari în HLP II și IV, sînt comunicate de Einarsson și colab. (117—124). Ele pot fi rezumate astfel :

— în HLP tip II scade *pool*-ul și producția acizilor biliari, în special datorită modificărilor acidului colic. Nu se semnalează diferențe între HLP tip II a și HLP tip II b ;

— administrarea orală de acid colic în mod normal induce creșterea *pool*-ului și turnoverului propriu sau metabolismului său (acidul deoxicolic), în timp ce parametrii identici ai acidului chemodeoxicolic sînt scăzuți. În HLP tip II, aceste modificări sînt identice : creșterea *pool*-ului și turnoverului acidului colic și deoxicolic fiind asociată cu scăderea colesterolului seric și creșterea eliminării sterolilor neutrii în fecale. În HLP tip IV, modificările parametrilor cinetici descriși este nesemnificativă ;

— administrarea orală de acid deoxicolic la subiecții normali nu influențează parametrii cinetici ai acizilor biliari și nici nivelul colesterolului seric ;

— administrarea orală de acid chenodezoxicolic scade *pool*-ul și turnoverul acidului colic, atît în HLP familială tip II, cît și în tipul IV ;

— atît în HLP tip II, cît și în tipul IV, sinteza acizilor biliari este mai mare la bărbați decît la femei, nefiind corelată cu greutatea corporală.

Concluzii de ordin patogenetic vizînd HLP familială tip II, se pot stabili privind efectul colesteraminei, care, paralel cu scăderea colesterolului seric, produce creșterea ratei catabolismului LDL, fără a influența sinteza LDL (126).

Turnoverul colesterolului în HLP familială tip II. Utilizînd conceptul modelului bicompartimental, Goodman și Noble (78) evidențiază creșterea *pool*-ului total „schimbabil" al colesterolului în HLP familială tip II cu xantomatoză, fără afectarea marcată a *pool*-ului de schimbare rapidă. Ritmul schimburilor între cele două *pool*-uri nu este afectat, și secvența „input și output" din *pool*-ul total de schimb.

Scanned with OKEN Scanner

Nestel şi colab. (76), utilizînd acidul mevalonic marcat (2-H^3-lactonă), demonstrează creşterea formării colesterolului esterificat plasmatic la subiecţii hipercolesterolemici obezi.

Samuel şi colab. (77), într-un studiu de lungă durată (55—63 de săptămîni) al cineticii colesterolului seric şi tisular, la bolnavi cu hipercolesterolemie, evidenţiază secvenţa „input", cu o valoare de 1,29 g/24 ore, *pool*-ul de schimbare rapidă : 55,7 g, iar masa totală a colesterolului schimbabil de 116,3 g. Prin decesul unui pacient, a fost posibilă aprecierea activităţii specifice a unor ţesuturi (în aortă, valorile au fost de 3,12 ori mai mari decît în ser, iar în ţesutul adipos de 2 ori mai mari decît în ser).

Sodhy şi colab. (75) relevă în HLP tip II b, un turnover mai accelerat al colesterolului, în comparaţie cu subiecţii normali sau cei cu HLP familială tip II a.

Foarte recent (135), printr-un studiu de lungă durată al bolnavilor cu HLP tip II a, cărora li s-a aplicat modelul „triplului pool", se demonstrează că rata producţiei colesterolului este aproape egală cu cea evidenţiată la subiecţi normali. Aceasta este o dovadă clară că secvenţa „input" din metabolismul colesterolului în HLP tip II a nu este afectată.

C. METABOLISMUL LDL ÎN HLP TIP II

În anul 1969 Langer, Strober şi Levy (79) marchează componenta proteică a LDL, care se injectează la subiecţi normali şi la pacienţi cu HLP familială tip II. În cazurile de HLP nu se evidenţiază modificări ale repartiţiei lipoproteice intra- şi extravasculare. În schimb, rata catabolică fracţională a fost aproape de două ori mai redusă în aceste cazuri, în comparaţie cu subiecţii normali. Timpul de înjumătăţire al LDL marcate la bolnavi cu HLP a fost de 4,7 zile şi este menţinut la aceleaşi valori chiar dacă LDL marcate provin de la subiecţi normali, la care, de fapt valorile sînt mai mici (3, 1 zile).

Aceste concluzii permit afirmarea existenţei tulburării catabolismului LDL în HLP familiale tip II (apo-LDL în special) (3). Lipsa unor date precise asupra catabolismului normal al LDL limitează posibilităţile de explorare în continuare. Se postulează prezenţa unor doze duble de alele anormale, operante la nivelul enzimelor catabolizante ale LDL (3).

Myand şi colab. (65) utilizînd acid mevalonic marcat (2-C^{14}) evidenţiază scăderea turnoverului fracţional al esterilor de colesterol din LDL şi HDL la pacienţi cu hiperbeta-LP familială (homo- şi heterozigoţi), faţă de normali. Explicaţia acestui fenomen aduce în discuţie activitatea LCAT în această boală, care după Myand (citat de 65) este normală, iar după Yasugi şi colab. (130) este chiar crescută. Pe de altă parte, Noma şi Orimo (131), în HLP tip II a evidenţiază scăderea activităţii lipoproteinlipazice, explicată prin efectul inhibant al hipercolesterolemiei asupra acestui sistem enzimatic. Faptele prezentate conferă acestei probleme un caracter fascinant.

Scanned with OKEN Scanner

Recent, Carlson (116) încearcă explicarea patogenetică a HLP tip II b astfel (fig. VI.4.) : creşterea secvenţei 1 din figură poate avea drept cauză hipermobilizarea AGL din ţesutul adipos (*stress*, rezistenţa insulinică), reducerea combinată a secvenţei 4 şi 2 sau 4 şi 3 produce, de asemenea, o acumulare de VLDL, inducînd HLP tip II ; modificările combinate din cele 4 secvenţe pot avea ca finalitate HLP tip II a, tip II b şi tip IV.

Fig. VI.4. — Mecanisme ipotetice invocate în patogeneza HLP familiale II b : 1 — secreţia hepatică a VLDL ; 2 — îndepărtarea trigliceridelor din VLDL sub acţiunea lipoproteinlipazei ; 3 — transformarea VLDL săracă în LDL ; aici intervine activitatea LCAT ; 4 — catabolismul LDL (după Carlson — 116).

Oricare ar fi căile patogenetice ale HLP familiale tip II, finalitatea este creşterea concentraţiei plasmatice a LDL ± creşterea VLDL. Faţă de normali, această creştere este mai mare la heterozigoţi şi mult mai marcată la homozigoţi (3), fiind cauza directă a histogenezei xantoamelor şi a aterogenezei precoce şi accelerate.

VI.2.6. ANATOMIE PATOLOGICĂ ŞI HISTOPATOLOGIE

A. MECANISMUL DE FORMARE A XANTOAMELOR

O excelentă sinteză a patogeniei xantoamelor este comunicată de Watson şi colab. (80). Xantoamele se consideră a fi granuloame de tip special (apar la subiecţi cu HLP) în ţesutul conjunctiv, în care pătrund macromolecule de LDL, datorită alterării permeabilităţii vasculare. Aici sînt fagocitate de histiocite, iniţiindu-se astfel fibro- şi sclerogeneza. Această teorie „insudativă" a xantomogenezei are mari asemănări cu aterogeneza (80).

Macromoleculele plasmatice de LDL pătrund prin peretele vascular, a cărui permeabilitate este alterată, în substanţa fundamentală a ţesutului conjunctiv. Concomitent, la acest nivel, pătrund albumina şi gamaglobulinele. Rata depozitării depinde de nivelul lor plasmatic, cît şi de durata şi intensitatea tulburărilor de permeabilitate vasculară (date experimentale, 80).

Macrofagele (histiocitele în special) fagocitează macromoleculele LDL, care pînă în acest moment sînt intacte.

Intracelular are loc, iniţial şi rapid, proteoliza apoproteinelor, urmată mai lent de degradarea lipidelor. Oricum, în xantom găsim colesterol liber, colesterol esterificat, fosfolipide şi trigliceride în concentraţii variate (predomină colesterolul care se esterifică treptat, mai ales cu acidul 18 : 1) (3). Degradarea colesterolului nu are loc, el acumulîndu-se fie intra-, fie extracelular, sub formă de cristale, factor sclerogen care induce fibrogeneza.

Ulterior, întreţinerea lipoproteinelor în xantoame este asigurată prin sinteza locală de fosfolipide, trigliceride, cît şi prin aportul de lipopro-

Scanned with OKEN Scanner

teine serice. Ele pătrund acum mai uşor la acest nivel, deoarece prin iniţierea fibrinogenezei creşte permeabilitatea vasculară. Asistăm astfel la un veritabil mecanism de autoîntreţinere metabolică şi histopatogenetică.

Regresiunea xamtoamelor este indusă de scăderea lipoproteinelor serice care determină scăderea lipidelor din xantom, fără a influenţa leziunea fibroasă.

Distribuţia topografică preferenţială a xantoamelor este determinată de modificările locale de permeabilitate vasculară. La rîndul ei aceasta este produsă de unele traume mici, repetate sau permanente (presiune tegumentară etc.) în regiunile localizării xantoamelor.

Deşi s-a încercat stabilirea unei corespondenţe între tipul lipoproteinic plasmatic şi tipul clinic de xantom (81), acest lucru nu s-a reuşit, datorită imposibilităţii reproducerii la animale a diversităţii stărilor hiperlipoproteinemiante de la om. Se poate totuşi afirma că macromoleculele lipoproteinice cu Sf între 0 şi 20 au o penetraţie transmembranară mai uşoară în comparaţie cu lipoproteinele a căror Sf este între 20 şi 400.

B. ATEROSCLEROZA

Datele clinice, care prefigurează existenţa unei aterogeneze precoce şi accelerate cu grave consecinţe asupra lumenului vascular şi deci a hemodinamicii, sînt confirmate pe deplin de datele prosecturale.

La heterozigoţii decedaţi nu se constată modificări în procesul aterosclerozei, comparativ cu normolipemicii (3, 82).

La homozigoţi, intensitatea aterogenezei este impresionantă, aşa cum rezultă din amploarea leziunilor arterosclerotice depistate în aorta ascendentă şi abdominală, coronare, vase cerebrale, artera pulmonară, arterele femurale, valvule etc. Aceste modificări permit afirmaţia că de fapt este vorba de diferenţe cantitative ale aceleiaşi anomalii calitative.

Totuşi s-ar putea ca în predispoziţia şi realizarea arterosclerozei în HLP tip II, să nu intervină numai hiper-LDL, ci şi alţi factori. nali, ecologici etc. (3).

VI.2.7. GENETICA

HLP familială tip II este o boală înnăscută, autosomală dominantă cu penetranţă incompletă şi expresie variabilă (3, 13, 35, 84). Anomalia este produsă mono, sau mai plauzibil, poligenic (3, 132). Frecvenţa genelor nu se cunoaşte (3).

În aceeaşi familie se depistează cele două tipuri II a şi II b, fapt considerat deosebit de important pentru demonstrarea asocierii patogenetice între cele două tipuri HLP (84, 85). În grupul studiat la Centrul clinic din Bethesda (3), se evidenţiază, la rudeniile bolnavilor cu HLP familială tip II, prezenţa aceleiaşi anomalii, şi în procentaj mult mai redus HLP familială tip IV. Este semnificativ faptul că nu se constată existenţa HLP tip III. În fig. VI.5. prezentăm o familie în care se evidenţiază HLP tip II a, II b şi IV.

Scanned with OKEN Scanner

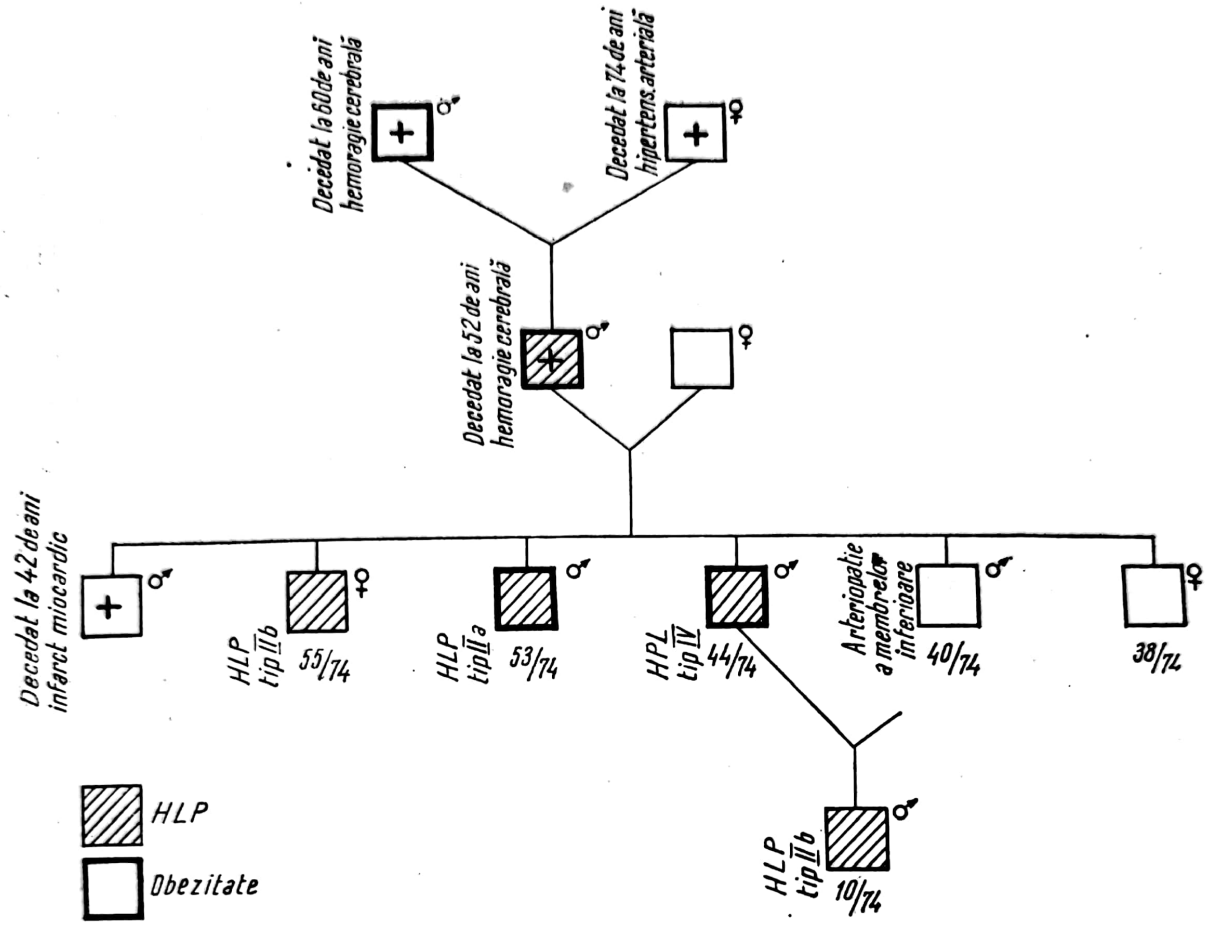


Fig. VI.5. — Prezența HLP tip IIa și IIb și IV în cadrul aceleiași familii : se remarcă frecvența crescută a patologiei cardio-vasculare.

Boala nu respectă vreo distribuție etnică sau țară anume. Nu se constată asocierea sa cu o altă boală genetică. Antigenul Lp(a) are aceeași distribuție în HLP tip II ca și la populația sănătoasă.

Rose și colab. (128), studiind aspectele genetice ale HLP combinate (tip II b), conchid că mai plauzibilă este transmisia anomaliei prin doi determinanți : unul legat de LDL, iar celălalt legat de VLDL. Genotipul legat de creșterea LDL nu ar fi identic cu cel din HLP tip II a. Această supoziție este sprijinită de caracterele clinice și biochimice ale bolnavilor studiați, care relevă o asemănare cu HLP familială tip IV și nu cu tipul II.

VI. 3. HIPERLIPOPROTEINEMIA FAMILIALĂ TIP III

(*Sinonime :* boala „Broad beta" (beta largă) ; *xantoma tuberosum,* xantomatoza idiopatică, hipercolesterolemică cu hiperlipemie, xantomatoza hipercolesterolemică familială cu hipertrigliceridemie, hiperlipemie mixtă „cazul palmelor galbene") (3).

Scanned with OKEN Scanner

VI.3.1. CADRUL NOSOLOGIC

HLP familială tip III este o boală cu o frecvență mai rară, caracterizată prin prezența în plasmă, într-o cantitate decelabilă, a unor VLDL anormale numite beta-VLDL. IDL Hiperlipidemia de însoțire este neprezentată de hipercolesterolemie și hipertrigliceridemie (3). Datorită precizării de dată mai recentă a nosologiei sale, primele descrieri ale HLP familială tip III se recunosc cu greu. În anul 1954, Goffman (citat de 3), separă lipoproteinele pacienților cu *xantoma tuberosum*. În anul 1957, Borrie (86) descrie „hiperlipemia esențială și hipercolesterolemia idiopatică xantomatoasă" care, ulterior, se dovedește a fi HLP familială tip III (87). Prima descriere completă a acestei boli aparține lui Fredrickson, Levy și Lees (7). Memorandumul O.M.S. (1) aduce precizările necesare pentru încadrarea sa nosologică.

VI.3.2. TABLOUL CLINIC

În tabelul VI.5. este redată procentual frecvența distribuției principalelor semne și simptome la 51 de bolnavi cu HLP familială tip III, aflați în evidența noastră.

Tabelul VI.5

Principalele caractere clinice ale bolnavilor cu hiperlipoproteinemie familială tip III

Cardiopatie ischemică	Arteriopatie periferică oclusivă	Hipertensiune arterială	Litiază biliară	Artropatii	Xantome				Xantelasme	Arc cornean	Hepatosplenomegalie	Dureri abdominale pancreatită?	Obezitate Supraponderе
					Plantare	Tuboeruptive	Tendinoase	Eruptive					
73%	29%	42	21%	15%	61%	41%	14%	11%	52%	29%	24%	3%	32%

Depistarea bolii se face de regulă în jurul vîrstei de 40 de ani (3), sau între 24 și 53 de ani (87). La femei, diagnosticul se stabilește în jurul vîrstei medii de 49 de ani, în timp ce la bărbați acesta se întîmplă cu aproximativ 15 ani mai devreme (3). Nici o statistică nu relevă depistarea bolii înaintea vîrstei de 20 de ani. Probabil că expresia fenotipului este determinată de echilibrul dintre estrogeni și androgeni (3). Tabloul clinic este dominat de xantomatoză și patologia cardio-vasculară; cu o frecvență mai redusă se notează : hepatosplenomegalia, arcul cornean și durerile abdominale (3, 7, 8—21, 86—90).

A. XANTOMATOZA

Cele mai tipice sînt xantoamele planare cu localizare palmo-digitală, de culoare galbenă (boala „palmelor galbene" 88). Deși considerate carac-

Scanned with OKEN Scanner

teristice formelor familiale de boală, ele sînt prezente și în HLP tip III secundare. Alte tipuri de xantoame sînt cele tubo-eruptive, eruptive, tendinoase, tuberoase și subperiostale (3) (fig. VI.6. și VI.7).

Arcul cornean este mai rar ca în HLP familială tip II, iar xantelasmele sînt și mai rare.

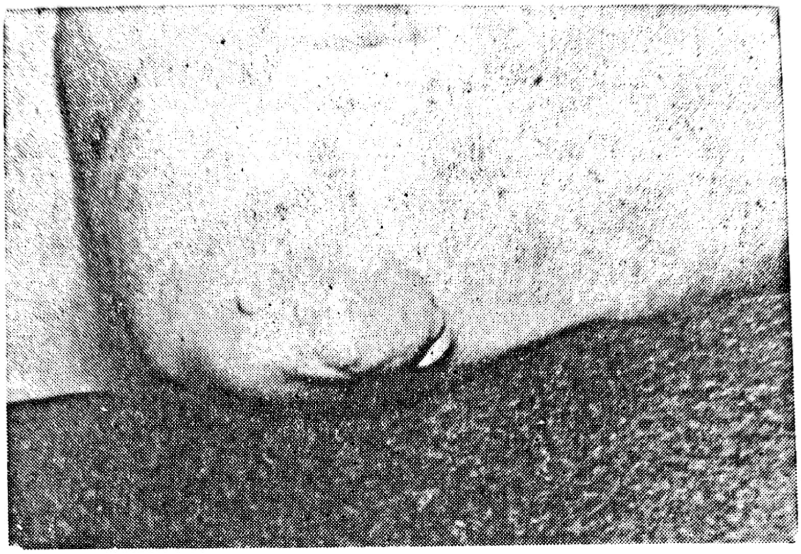


Fig. VI.6. — Xantom planar la un bolnav cu HLP familială tip III.

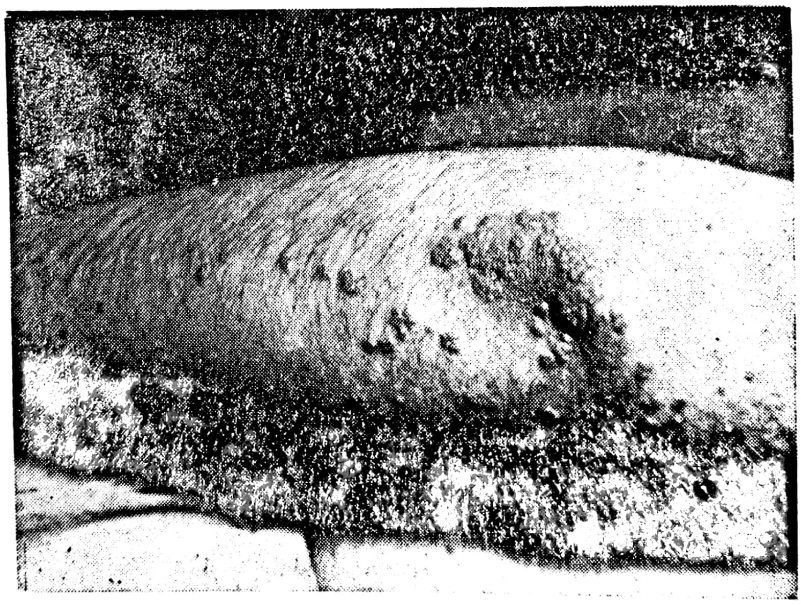


Fig. VI.7. — Xantoame tubo-eruptive; HLP familială tip III.

B. PATOLOGIA CARDIO-VASCULARĂ

Patologia cardio-vasculară este frecvent prezentă (3, 7, 46, 48—50, 82, 87, 89). În tabelul VI se observă valabilitatea afirmației, la cazurile noastre. Manifestările clinice îmbracă forme de angină pectorală, infarct miocardic, sindrom miocardic ± insuficiența cardiacă, claudicație inter-

Scanned with OKEN Scanner

mitentă şi hipertensiune arterială. De Gennes (89) comunică apariţia unui accident cerebral vascular la o femeie bolnavă cu HLP familială tip III, agravată de tratamentul cu anticoncepţionale (89).

C. ALTE TULBURĂRI CLINICE

În acest tip de HLP, durerile abdominale sînt rare. Într-un caz comunicat de Ahrens şi Castelman (95) se evidenţiază colecistită acută şi litiază biliară la un bolnav cu HLP familială tip III. Aceşti autori susţin caracterul excepţional al prezenţei simptomatologiei dureroase abdominale, în timp ce în grupul lui Fredrickson şi Levy, durerile sînt notate cu o frecvenţă de 5,9% (3).

VI.3.3. TABLOUL BIOCHIMIC

A. LIPIDE ŞI LIPOPROTEINE SERICE

Tipizarea lipoproteinelor plasmatice se face urmînd criteriile expuse în capitolul V.3, conform indicaţiilor O.M.S. (1).

Variaţia lor contitativă, la grupul studiat de noi, este redată în tabelul VI.6.

Tabelul VI.6

Spectrul lipidic şi lipoproteinic plasmatic la bolnavii cu HLP familială tip III

Grupa vîrsta (ani)	No			Plasma	VLDL	LDL	HDL	Trigliceride mg %
	B	F	T					
0—29	—	1	1	300	211	101	26	328
30—39	9	1	10	301±18	212±24	109±5,6	25±2,6	387±12
40—49	9	8	17	310±15	213±12	102±2,8	30±1,2	360±21
50—59	11	9	20	+299±16	209±10	105±7,3	30±6,4	352±18
60	7	12	19	314±16	226±14	107±9,1	20±3,1	389±23
Total	36	31	67					

Hipercolesterolemia şi hipertrigliceridemia sînt constante ; raportul lor variază între 0,3 şi 2 (1).

Fosfolipidele totale sînt crescute, probabil datorită creşterii sfingomielinei şi fosfatidilcolinei (55).

B. ALTE ANOMALII BIOCHIMICE

— Activitatea LPL este normală.
— HDL este în concentraţie normală.
— Hiperuricemia se notează cu o frecvenţă de 16% (3).
— Diabetul zaharat manifest şi scăderea toleranţei la glucide apar în proporţie de 6,4% şi respectiv, 46% (3). Legat de această anomalie s-a studiat insulinemia (56), care s-a găsit normală în 55% din cazuri. Răs-

Scanned with OKEN Scanner

punsul anormal a fost fie de tip hiperinsulinism, fie de tip hipoinsulinism. Se conchide că în HLP familială tip III nu există un răspuns insulinic caracteristic la încărcarea orală cu glucoză (3).

VI.3.4. CRITERII DIAGNOSTICE

Identificarea fenotipului se face prin următoarele criterii diagnostice (3) :

Criterii majore :

Compoziția lipidică a beta-VLDL.

— tipul III de HLP

— prezența HLP tip III la rudenii de gradul I ;

Criterii minore : (utilă, dar nu de valoare diagnostică) :

— xantome planare sau tuboeruptive ;

— labilitatea colesterolemiei și trigliceridemiei care au tendința de a crește rapid și prompt, după o dietă hiperglucidică sau hipercolesterolemiantă. Scăderea lor urmează după o restricție calorică ;

— prezența HLP tip IV la rudenii de gradul I ;

— excluderea fenocopiilor deoarece acest tip de HLP poate însoți unele boli, ca : diabetul zaharat cu acidocetoză, hipotiroidismul, disglobulinemiile.

VI.3.5. PATOLOGIE BIOCHIMICĂ ȘI FIZIOPATOLOGIE

A. ANOMALIILE LIPOPROTEINICE

În cazul HLP familiale tip III amprenta patobiochimică aparține anomaliilor lipoproteinice, dintre care, în primul rînd, beta-VLDL și apoi chilomicronii.

a. *Beta-VLDL.* În capitolul IV și V s-au expus principalele modalități de evidențiere a beta-VLDL, inclusiv fenomenul „beta-flotației".

Hazzard și colab. (91) evidențiază în subfracțiile VLDL, creșterea esterilor de colesterol și scăderea trigliceridelor, fără modificarea colesterolului liber și a fosfolipidelor. Aceasta produce modificarea densității macromoleculelor beta-VLDL.

Datorită compoziției sale chimice și a dinamicii sale în corp, beta-VLDL se mai numește LP cu densitate intermediară IDL (intermediate density lipoprotein) sau ILDL (LDL intermediară). Ea are următoarea compoziție chimică : 30% colesterol, 40% trigliceride, 20% fosfolipide, 10% apoproteine (129).

Apoproteinele din beta-VLDL se pare că nu sînt diferite semnificativ față de apo-LP din VLDL de la subiecții normali sau din beta-VLDL. Astfel, apo-LDL din beta-VLDL este identică cu apo-LDL provenită de la subiecții normali, din punct de vedere imunochimic, al proprietăților optice, compoziției aminoacizilor, fapt valabil și pentru celelalte apoproteine (3, 92). Totuși, nu se poate exclude existența unor anomalii structurale ale componentelor apoproteice.

Scanned with OKEN Scanner

Caracteristic pentru HLP familială tip III este variaţia beta-VLDL în funcţie de compoziţia dietei. Se consideră că acest tip HLP este cel mai mult influenţat de dieta hiperglucidică, comparativ cu celelalte tipuri. În această eventualitate se remarcă creşterea rapidă a beta-VLDL, trigliceridemiei şi colesterolemiei (3). Fenomenul invers se remarcă în cazul restricţiei calorice sau a alimentaţiei hipocarbohidrate (3).

b. *Chilomicronii.* Foarte rar chilomicronii pot fi prezenţi „à jeun" la bolnavii cu HLP familială tip III. Hazzard (92) evidenţiază anomalii în compoziţia lor lipidică, în sensul creşterii procentelor de colesterol şi scăderea proporţiei de trigliceride.

B. MECANISME PATOGENETICE IPOTETICE

Mecanismul de producere a HLP familiale tip III nu poate fi precizat. Aceasta se datoreşte lacunelor deosebite pe care le avem în cunoaşterea metabolismului VLDL şi LDL.

Se presupune că apariţia în plasmă a beta-VLDL este un fenomen normal pe care nu-l depistăm datorită turnoverului extrem de accelerat (3). Încetinirea acestuia ar sta la baza producerii HLP tip III. Cauza acestui hipocatabolism (sau patocatabolism ?) nu se cunoaşte. Oricum, ar trebui aduse în discuţie activitatea LPL şi LCAT. Din acest motiv, nu se poate preciza nici localizarea mutaţiilor (3).

VI.3.6. ANATOMIE PATOLOGICA

Primele date necropsice asupra unui bolnav cu HLP familială tip III sînt comunicate în anul 1970, de către Robert, Levy şi Fredrickson (94). Ulterior se mai adaugă încă un caz (82). În ambele cazuri se evidenţiază infarct miocardic, plăci de aterom pe coronare şi aorta abdominală. În endocard, se găseşte un infiltrat de „celule spumoase", fenomen evidenţiat şi în splină şi în alte organe.

Leziunile xantomatoase din acest tip de HLP nu se diferenţiază histopatologic de cele din HLP familiale tip II (3). Totuşi nu se poate preciza cauza predominanţei xantoamelor planare în HLP familială tip III.

VI.3.7. GENETICA

HLP familială tip III este o boală înnăscută cu un mod de transmisie încă neelucidat : poate fi autosomal recesiv sau autosomal dominant, cu o penetranţă incompletă (3).

Prezenţa în cadrul aceleiaşi familii a rudeniilor de gradul I, a HLP tip IV, ridică problema dacă aceste două boli nu sînt produse de aceeaşi (aceleaşi) genă (gene) care au expresii fenotipice diferite (3).

Transmisia verticală a bolii nu poate fi întotdeauna evidenţiată. Redăm totuşi o astfel de eventualitate în figura VI.8.

Scanned with OKEN Scanner

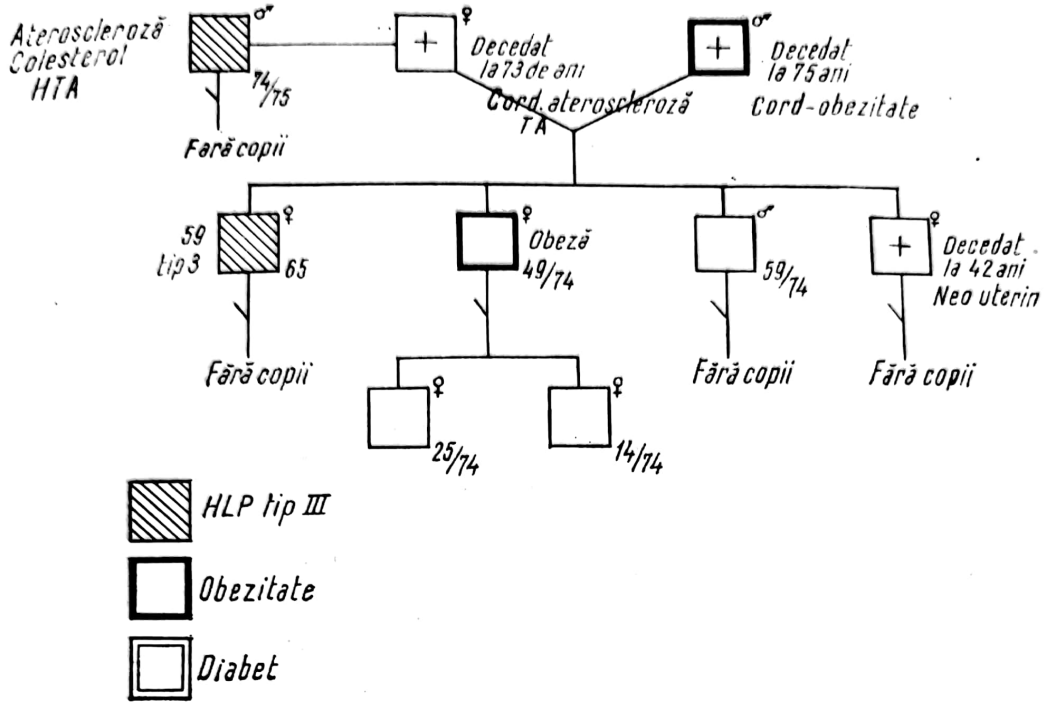


Fig. VI.8. — Demonstrarea transmisiei „verticale" a HLP tip III în cadrul aceleiași familii.

VI.4. HIPERLIPOPROTEINEMIA FAMILIALĂ TIP IV

(*Sinonime :* hiperprebeta-lipoproteinemia familială, hipergliceridemia familială, endogenă, hiperlipemia carbohidrat-indusă, hiperlipemia esențială sau idiopatică, 3).

VI.4.1. CADRUL NOSOLOGIC

HLP familială tip IV este una din lipoproteinemiile cu o mare frecvență, caracterizată prin creșterea concentrației plasmatice a VLDL. Deoarece aceste LP sînt predominant de origine hepatică, iar creșterea lor a fost indusă prin dieta hiperglucidică, acest tip de HLP a fost denumită „carbohidrat indusă" sau „endogenă".

Începînd cu anul 1954, Goffman (citat de 3) atrage atenția asupra relației dintre creșterea VLDL și aterosclerozei. Din anul 1955, studiile asupra hipertrigliceridemiei endogene se înmulțesc (3). Totuși, caracterul ei familial este demonstrat numai în 1965 (6). Ulterior, în 1967, Fredrickson și colab. comunică concluziile asupra unui studiu vizînd transmisia bolii (7).

Scanned with OKEN Scanner

VI.4.2. TABLOUL CLINIC

În tabelul VI.7. este redată incidența manifestărilor clinice majore la un grup de bolnavi cu HLP familială tip VI, observați la centrul nostru.

Tabelul VI.7

Principalele caractere clinice ale bolnavilor cu hiperlipoproteinemie familială tip IV

Cardiopatie ischemică	Arteriopatie periferică oclusivă	Hipertensiune arterială	Litiază biliară	Artropatii	Xantome				Xantelasme	Arc cornean	Hepatosplenomegalie	Dureri abdominale pancreatită	Obezitate supraponderare
					Planare	Tuboeruptive	Tendinoase	Eruptive					
93%	34%	48%	19%	23%	0%	9%	0	18	11%	14%	44%	1%	73%

Depistarea bolii se face în copilărie. Tabloul clinic cuprinde : manifestări xantomatoase, tulburări cardiovasculare, obezitate, hepatosplenomegalie, dureri abdominale, pancreatită, precum și acuze în cadrul hipo- sau hiperglicemiei (3,7—21, 96, 97).

A. XANTOMATOZA

De regulă apar xantoame eruptive (15% din cazuri) în condițiile creșterii trigliceridelor peste nivelul de 1 500 mg % (fig. VI.9.). Ele dispar rapid în momentul scăderii trigliceridemiei (3). Uneori se remarcă apariția xantoamelor tubo-eruptive. În acest tip de HLP nu s-a semnalat prezența xantomului planar.

B. PATOLOGIA CARDIO-VASCULARĂ

Este evidențiată cu o frecvență crescută, manifestîndu-se sub forma infarctului miocardic, anginei pectorale, sindromului miocardic ± insuficiență cardiacă, arteriopatie periferică. În cazuistica lui Fredrickson și Levy (3), infarctul miocardic și angina pectorală apar cu o frecvență de 38%, în timp ce claudicația intermitentă este depistată în 20% din cazuri.

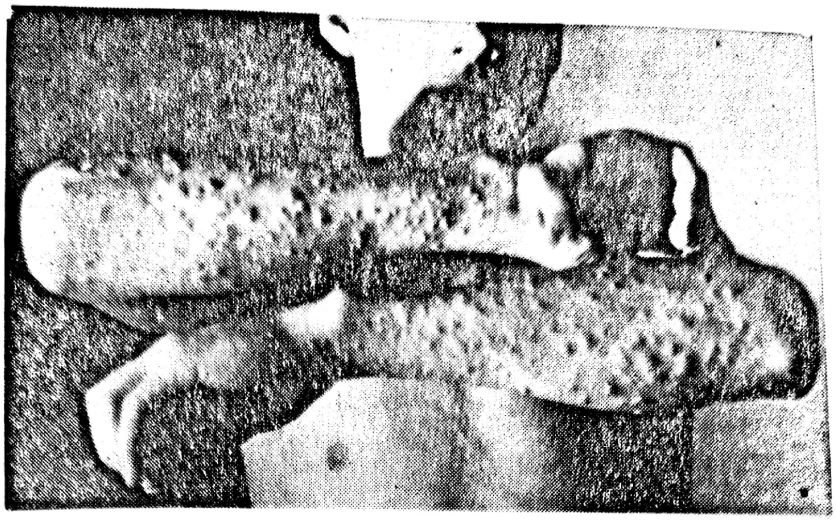
La 126 bolnavi cu coronaropatie evidențiată angiografic (98) HLP tip IV apare în 32 de cazuri, iar tipul II la 36 pacienți.

Brown (99) evidențiază cu o mare frecvență HLP tip IV la bolnavii cu infarct miocardic.

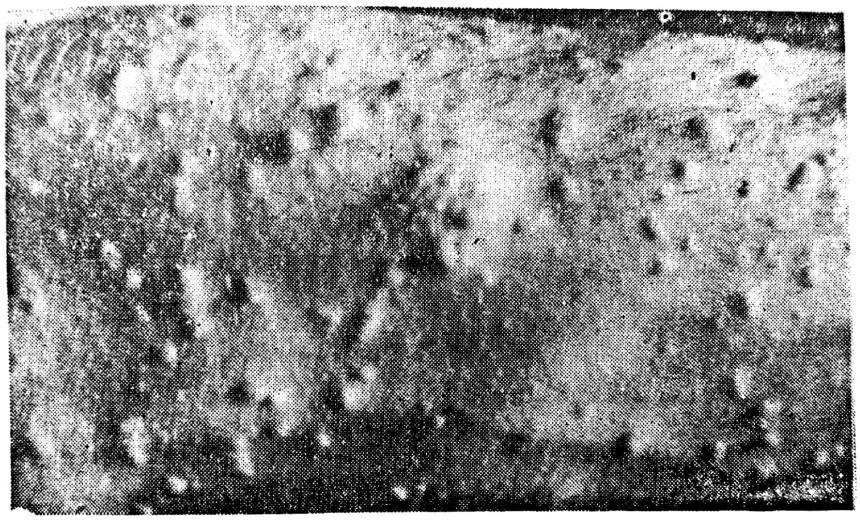
C. DURERILE ABDOMINALE ȘI PANCREATITA

Durerile abdominale debutează mai tîrziu decît episoadele similare din HLP familială tip I, avînd însă aceleași caractere. Și în aceste cazuri

Scanned with OKEN Scanner



a



b

c

Fig. VI.9. — Xantoame eruptive în regiunea antebrațului (a) și periocular (b) HLP familială tip IV. (c = detaliu de la figura b).

se ridică aceleaşi probleme clinice şi patogenetice ca în cazul HLP familială tip. I.

D. OBEZITATEA

Obezitatea este notată în HLP familială tip IV cu o frecvenţă diferită, oricum mult mai crescută decît în celelalte forme de HLP (3). Se presupune rolul ei în scăderea toleranţei la glucide şi în accentuarea tulburărilor metabolismului lipidic.

E. ALTE ANOMALII CLINICE

Lipemia retinalis şi hepatosplenomegalia apar cu o frecvenţă mai redusă în acest tip de HLP.

VI.4.3. TABLOUL BIOCHIMIC

A. LIPIDELE ŞI LIPOPROTEINELE SERICE

În capitolul V sînt comentate criteriile de diagnosticare ale HLP tip IV, conform memorandumului O.M.S. (1). În tabelul VI.8. redăm valorile lipidelor şi lipoproteinelor plasmatice la bolnavii cu HLP tip IV.

Tabelul VI.8

Spectrul lipidic şi lipoproteinic plasmatic la bolnavii cu HLP familială tip IV

Grupa de vîrstă (ani)	Nr.			Colesterol mg %				Trigliceride mg %
	B	F	T	Plasma	VLDL	LDL	HDL	
<29	4	1	5	218±9,8	109±7,4	106±3,6	19±1,4	318±17
30—39	14	7	21	254±15	100±8,2	120±4,7	27±7,2	476±48
40—49	24	11	35	254±11	207±2,6	118±5,1	26±6,2	416±30
50—59	19	13	32	277±14	220±11	123±6,0	31±3,2	383±42
60	13	11	24	263±16	99±13	121±2,6	22±4,5	327±27
Total	74	43	117					

— Chilomicronii sînt absenţi, LDL şi HDL sînt normale (3).

— Trigliceridele serice sînt mult crescute în toate cazurile. Colesterolul poate fi crescut, iar raportul C/TG este variabil.

— AGL sanguin „à jeun" sînt crescuţi (3,97).

— Fosfolipidele totale sînt de asemenea crescute, în special datorită fosfatidilcolinei şi nu a sfingomielinei, a cărei concentraţie este scăzută (55).

— Variaţia lipidelor şi lipoproteinelor serice sînt în raport cu alimentaţia. Atît la subiecţii normali, cît şi la pacienţii cu HLP familială tip IV, trigliceridele şi VLDL plasmatice cresc impresionant, la 7 zile după introducerea unei diete predominant carbohidrate (101—108). Restricţia alimentară carbohidrată, ameliorează prompt tabloul biochimic. Această „inducere

carbohidrată" a hipertrigliceridemiei, deşi frecventă, nu este definitorie pentru acest tip de HLP (3). Spre deosebire de intoleranţa la glucide, bolnavii cu HLP tip IV familială tolerează aproximativ 200 g lipide în alimentaţie, fără apariţia chilomicronilor „à jeun".

B. ALTE ANOMALII BIOCHIMICE

Scăderea toleranţei la hidraţi de carbon este notată în mod frecvent (3,7—21,56), uneori fiind vorba de un diabet zaharat manifest, care de fapt se depistează şi la alţi membrii din familie (3). Glueck şi colab. (56) evidenţiază cu o frecvenţă crescută în acest tip de HLP, hiperinsulinismul, invocat de unii autori ca mecanism patogenetic principal în producerea bolii (105, 106, 109, 110).

Activitatea LPL în HLP familială tip IV este normală (3, 87, 96), deşi nu exclude posibilitatea scăderii ei în anumite forme de boală (3).

Hiperuricemia este de asemenea, notată cu o frecvenţă mai mare ca în alte tipuri de HLP (3,30).

VI.4.4. CRITERII DIAGNOSTICE

Definirea fenotipului se face pe baza următoarelor criterii (3) :

Criterii majore :

— evidenţierea HLP tip IV ;

— evidenţierea HLP tip IV la rudenii de gradul I ;

— dacă se stabileşte, pe baza anchetei genetice o relaţie apropiată cu HLP familială tip I, III, V, definirea va fi „HLP familială tip IV" variantă a tipului I, III sau V.

Criterii minore :

— evidenţierea HLP tip IV la un părinte şi jumătate din fraţii adulţi;

— colesterolemia normală concomitent cu o hipertrigliceridemie sub valorile de 400 mg% ;

— hipertrigliceridemie sub valori de 1 500 mg% ;

— antecedente familiale de diabet zaharat ;

— excluderea fenocopiilor întîlnite în : diabet zaharat insulinodependent, sindromul nefrotic, insuficienţa renală, glicogenoza, paraproteinemii, hipotiroidism, exces alcoolic, hipercalcemia idiopatică, sindrom Werner, pancreatită, terapie cu anticoncepţionale (3).

VI.4.5. PATOLOGIE BIOCHIMICĂ ŞI FIZIOPATOLOGIE

Mecanismele patogenetice implicate în producerea HLP familiale tip IV, nu se cunosc decît parţial.

În esenţă este vorba de un dezechilibru secvenţial excedentar în care secvenţa „input" a metabolismului VLDL este mai mare decît secvenţa „output". Aceasta vizează :

— tulburarea metabolismului trigliceridelor ;

— tulburarea metabolismului apoproteinelor VLDL ;

Scanned with OKEN Scanner

— eventualele anomalii de compoziţie şi structură ale macromoleculei VLDL ;

— tulburarea metabolismului şi cineticii macromoleculei VLDL în întregime.

Localizarea erorii (erorilor) nu este posibilă pînă în prezent, dar este mai mult ca sigură existenţa mai multor mutaţii. Complexitatea moleculei VLDL, cît şi a mecanismelor care îi controlează metabolismul, face ca efortul conjugat al biochimiştilor, biofizicienilor etc. pentru precizarea anomaliilor, să fie de-a dreptul „tantalic" (3).

Compoziţia şi structura VLDL de la bolnavii cu HLP familială tip IV, se pare că sînt identice cu cele de la subiecţii normali (3,92), deşi nu este exclusă şi aici prezenţa unor anomalii structurale de mare fineţe (3).

Mecanismele hiperlipidemiante-hiperlipoproteinemiante în HLD tip IV vor fi detaliate în capitolul VI.9. Este posibil ca în formele familiale ale anomaliei să existe variante de fineţe cantitativă sau chiar calitative.

VI.4.6. ANATOMIE PATOLOGICĂ

Datele necropsice provenite de la bolnavi cu HLP familială tip IV decedaţi nu sînt diferite de cele comunicate pînă acum în celelalte tipuri HLP.

VI.4.7. GENETICĂ

HLP familială tip IV este o boală înnăscută datorată unei singure alele autosomale, cu transmisie dominantă, dar cu întîrziere în expresie (3). Remarcăm prezenţa la membrii aceleiaşi familii a HLP tip I, II, IV şi V. Asocierea HLP tip IV şi V, se consideră a avea o importanţă specială (3).

VI.5. HIPERLIPOPROTEINEMIA FAMILIALĂ TIP V

(Sinonime : hipergliceridemia familială, endogenă şi exogenă, hiperlipemia familială mixtă, hiperlipemia esenţială sau idiopatică) (3).

VI.5.1. CADRUL NOSOLOGIC

HLP familială tip V este o boală rară, caracterizată prin creşterea concentraţiei plasmatice a VLDL, concomitent cu prezenţa chilomicronilor în condiţii „à jeun" (3). Deşi există asemănări clinico-biochimice şi genetice între HLP tip IV şi V, totuşi diferenţele stabilite obligă la separarea gnoseologică a acestor două tipuri. Pînă în prezent dispunem de suficiente argumente pentru ca ele să fie considerate două entităţi distincte.

Prima delimitare nosologică şi descrierea completă a bolii aparţine lui Fredrickson şi colab., din anul 1965 (7).

Scanned with OKEN Scanner

VI.5.2. TABLOUL CLINIC

În tabelul VI.9. este redată incidența manifestărilor clinice majore la bolnavii cu HLP familială tip V.

Tabelul VI.9

Principalele caractere clinice ale bolnavilor cu hiperlipoproteinemie familială tip V

Cardiopatie ischemică	Arteriopatie periferică oclusivă	Hipertensiune arterială	Litiază biliară	Artropatii	Xantome				Xantelasme	Arc cornean	Hepatosplenomegalie	Dureri abdominale pancreatită?	Obezitate supraponderă
					Planare	Tuboeruptive	Tendinoase	Eruptive					
32%	19%	38%	11%	4%	0	1%	0	39%	6%	0	64%	15%	59%

Boala debutează în copilărie, sau în jurul vîrstei de 20 de ani (3) și se manifestă în special prin : dureri abdominale, pancreatită, xantoame eruptive. Deși unii autori descriu în acest tip de HLP scăderea incidenței patologiei cardio-vasculare, noi o semnalăm în 66% din cazuri.

Frecvența durerilor abdominale și a pancreatitei este impresionantă (43%) (3). Noi nu am întîlnit-o cu aceeași frecvență. Deși debutează mai tîrziu decît în HLP familială tip I, ele apar în aceleași circumstanțe avînd aceleași caractere clinice.

Xantoamele eruptive apar cu o frecvență de 39% în statistica noastră. Mecanismul de producere este asemănător cu cel din HLP familială tip I. Nu s-au comunicat xantoame planare în acest tip de HLP.

Patologia cardio-vasculară, deși mai puțin frecventă decît în HLP familiale tip II, III, IV este, totuși, prezentă, manifestîndu-se în special prin angină pectorală (3) și infarct miocardic (3, 82, 112). Acestea apar precoce și evoluează sever.

Hepatosplenomegalia este mai frecventă decît în HLP familială tip IV, la fel ca și *lipemia retinalis* (3).

Obezitatea este frecventă, influențînd probabil spectrul lipidic și lipoproteinic seric, cît și toleranța la glucide. Se pot evidenția manifestări clinice datorate hiper- sau hipoinsulinismului (3).

VI.5.3. TABLOUL BIOCHIMIC

În capitolul precedent s-au precizat criteriile O.M.S. necesare diagnosticului tipului V de HLP.

În tabelul VI.10 redăm variația valorilor lipidelor și lipoproteinelor serice la bolnavii cu HLP familială tip V. Caracteristic pentru diagnostic sînt următoarele anomalii :

— hiper VLDL și chilomicronemia „à jeun" testul chilomicronilor pozitiv ;

— hipertrigliceridemia și hipercolesterolemia : raportul C/TG, fiind mai mare de 0,15, dar mai mic de 0,6.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul VI.10

Spectru lipidic şi lipoproteinic plasmatic la bolnavii cu HLP familială tip V

Grupa de vîrstă (ani)	Nr.			Colesterol mg %				Trigliceride mg %
	B	F	T	Plasma	VLDL	LDL	HDL	
<29	2	—	2	333,5	165,0	130,5	36,5	1 190,0
30—39	5	—	5	354±6,3	168±4,8	140±3,6	36±3,2	1 577±72
40—49	5	1	6	321±24	155±12	120±2,1	40±3,9	1 621±79
50—59	2	1	3	357±8,4	173±10	128±3,6	49±9,2	1 123+68
60	1	1	2	462,5	355,5	135,0	69,0	1 232,5
Total	15	3	18					

Alte anomalii lipidice se referă la hiper AGL-mia „à jeun" (3) şi creşterea fosfolipidelor în special pe seama fosfatidil colinei (55).

HDL şi LDL sînt în concentraţie normală (3).

Dieta hiperglucidică sau hiperlipidică influenţează spectrul lipidic şi lipoproteinic plasmatic diferenţiat :

— aportul hiperglucidic induce dispariţia chilomicronilor şi creşterea VLDL ;

— aportul lipidic induce hiperchilomicronemia şi nu afectează VLDL (dacă aportul nu depăşeşte 200 g lipide/24 ore (3). Acest comportament lipoproteinic variat în HLP familială tip IV şi V ne ajută la diferenţierea celor două boli.

— Alte anomalii biochimice se referă la (3) :

— scăderea toleranţei la glucoză şi diabet zaharat manifest care, alături de anomaliile insulinice (hiper- sau hipoinsulinism), au aceeaşi semnificaţie ca în HLP familiale tip IV ;

— hiperuricemia, întîlnită în 40% din cazuri ;

— activitatea LPL poate fi normală sau scăzută ; nu s-au efectuat încă determinări diferenţiate ale trigliceridlipazei şi monoglicerid-lipazei (3).

VI.5.4. CRITERII DE DIAGNOSTIC

Diagnosticarea fenotipului se face cu ajutorul următoarelor criterii :

— *Criterii majore :*

— prezenţa HLP tip V ;

— prezenţa HLP tip V sau IV la rudenii de gradul I.

— *Criterii minore :*

— un părinte sau 2/3 din fraţii adulţi să aibă HLP tip V sau IV ;

— hipercolesterolemie concomitent cu hipertrigliceridemie ce depăşeşte valorile de 400 mg% ;

— antecedente familiale de diabet zaharat, dureri abdominale şi pancreatită ;

— excluderea fenocopiilor (identice cu cele din tipul IV).

Scanned with OKEN Scanner

VI.5.5. PATOLOGIE BIOCHIMICĂ

Pentru explicarea hiper VLDL şi hiperchilomicronemiei sînt valabile comentariile făcute în capitolele referitoare la HLP familială tip I şi IV.

VI.5.6. ANATOMIE PATOLOGICĂ

Pînă în prezent nu există date necropsice provenite de la vreun bolnav cu HLP tip V. Din biopsiile efectuate se poate afirma existenţa celulelor spumoase în splină, măduva osoasă, ganglioni limfatici şi ficat (82).

Siperstein şi colab. (115) nu constată, la pacienţi cu HLP tip V familială, îngroşarea membranei bazale din capilarele musculare, aşa cum se evidenţiază în diabetul zaharat.

VI.5.7. GENETICA

HLP familială tip V este o boală înnăscută, cu un mod de transmisie încă neprecizat (3). Din punct de vedere genotipic, bolnavii cu acest tip de HLP se diferenţiază de tipul IV (3). Ei pot prezenta o sumare de hetero-

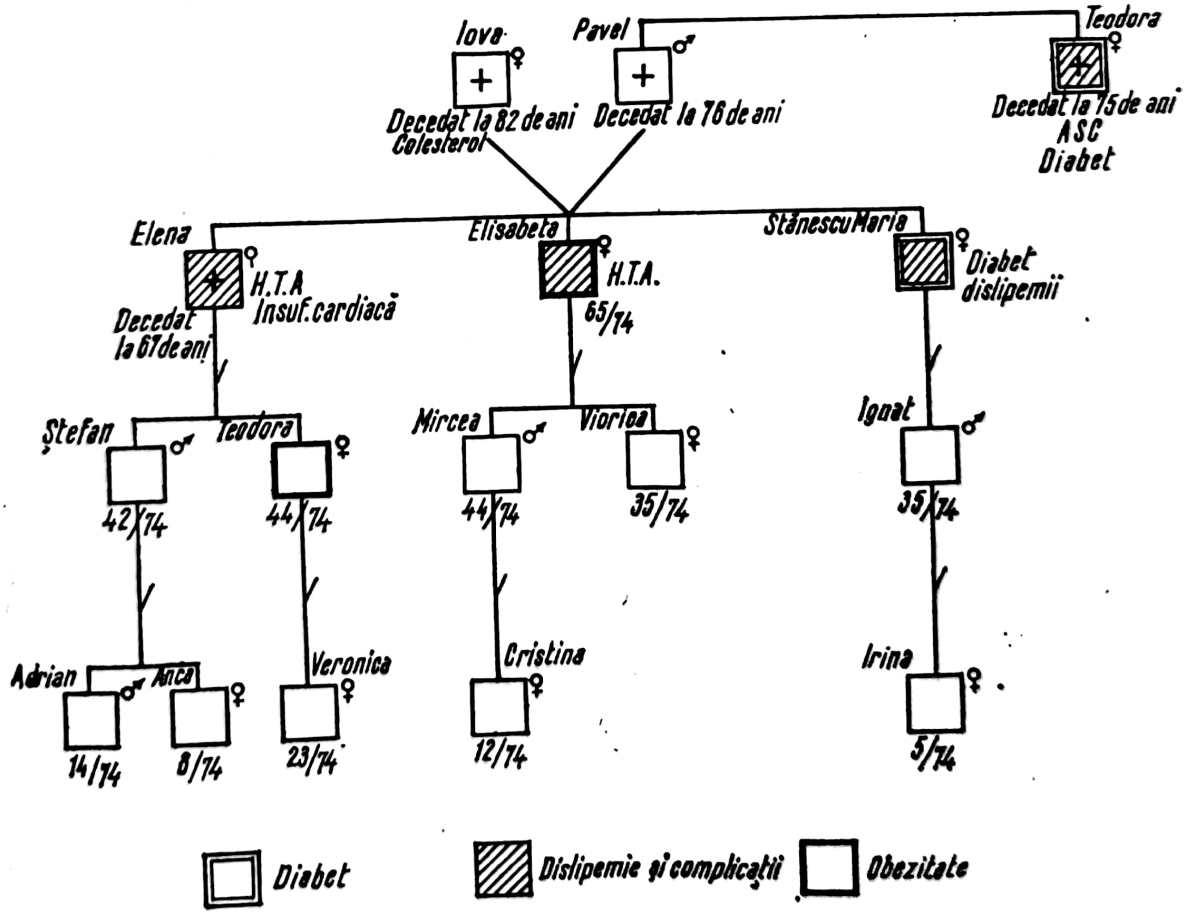


Fig. VI.10. — **Prezenţa HLP tip V în cadrul aceleiaşi familii.**

zigoți care au alele comune, dar în combinație și cu o altă mutație (3). În fig. VI.10 prezentăm arborele genealogic al unei familii unde s-au depistat bolnavi cu HLP tip V.

VI.6. PANCREATITELE ȘI HIPERLIPOPROTEINEMIL

VI.6.1. INTRODUCERE — CADRUL NOSOLOGIC

În anul 1865, Speck (citat de 1) evidențiază lactescența serului provenit de la un bolnav cu pancreatită acută. Mult mai tîrziu, în 1924, Binet și Brocq (citat de 1), realizînd pancreatita acută experimentală la cîine, arată că hiperlipidemia este legată de afectarea pancreasului. În ultimii 20 de ani, apar multe publicații vizînd acest subiect, în special datorită faptului că frecvența hiperlipidemiei este în continuă creștere, concomitent cu creșterea consumului de alcool care afectează atît pancreasul, cît și metabolismul lipidic. De fapt, „pancreatita, hiperlipidemia și alcoolismul, constituie o triadă în care cauza și efectul rămîn deocamdată necunoscute“ (2). Oricum, creșterea frecvenței hiperlipidemiei în pancreatita acută sau în cea cronică recidivantă, de la 3—12% (3) pînă la 20—25% (4), se explică tocmai prin creșterea ingestiei alcoolice. Alte elemente clinico-patogenetice care pot influența relația hiperlipidemie-pancreatită acută sînt : obezitate, excesul alimentar de lipide (în special în cadrul festinurilor), litiaza biliară. Privind aceste fenomene din punct de vedere cronologic, remarcăm următoarele (2) :

— hiperlipidemia poate precede pancreatita ;

— în timpul și după pancreatitele acute, se observă hiperlipidemii tranzitorii ;

— în multe cazuri de pancreatită acută nu se observă hiperlipidemie ;

— la mulți bolnavi, suferinzi de pancreatită acută, după vindecarea acesteia, hiperlipidemia persistă.

Complexitatea acestei relații, precum și imposibilitatea demonstrării certe a caracterului secundar al tulburării metabolismului lipidic, a impus o reorientare taxonomică în cazul hiperlipidemiei — hiperlipoproteinemiei din pancreatite drept care au fost introduse în grupul hiperlipoproteinemiilor primare.

VI.6.2. TABLOUL CLINIC ȘI BIOCHIMIC

În cele mai multe cazuri, hiperlipidemia-hiperlipoproteinemia se evidențiază în pancreatita acută sau în cursul acutizărilor din pancreatita cronică recidivantă. În pancreatita cronică, anomaliile lipidice serice sînt neobișnuite (1—5). Reevaluarea clinico-biochimică a pacienților aduce de cele mai multe ori în discuție :

— persistența HL—HLP adeseori pe fondul obezității ;

Scanned with OKEN Scanner

— anamneză caracteristică pancreatitei cronice sau litiazei biliare ;

— circumstanțe de declanșare a pancreatitei acute, în special legate de alimentație ;

— consumul de alcool sau anticoncepționale (6).

Tabloul clinic al pancreatitei acute însoțite de HLP nu se deosebește cu nimic de cel întîlnit în pancreatita fără tulburări lipidice și lipoproteinice.

Tabloul biochimic se caracterizează cel mai adesea prin hipertrigliceridemie severă (pînă la 4—5 000 mg%) (5), alături de HLP tip V, I sau IV. Caracteristicile sînt valorile normale ale lipazei serice și ale amilazei serice și urinare. Fenomenul s-ar explica prin prezența în serul acestor bolnavi a unui inhibitor al amilazei (4).

Cu o frecvență variabilă se notează scăderea toleranței la glucide sau chiar diabetul zaharat manifest (5).

VI.6.3. PATOLOGIE BIOCHIMICĂ ȘI FIZIOPATOLOGIE

Mecanismul prin care HL—HLP produc pancreatită este doar presupus, în timp ce hiperlipidemia care apare în timpul pancreatitei acute este practic fără explicație patogenetică.

Havel (8) invocă, ca element pancreato-nociv, AGL care apar în pancreas datorită hiperchilomicronemiei și hiper- VLDL hidrolizați excesiv prin lipaza locală. AGL alterează membrana capilară, producînd ischemie locală și eliberarea enzimelor pancreatice. Această presupunere este susținută prin faptul că la pacienții cu hiperlipoproteinemie preexistentă, o creștere bruscă a trigliceridelor serice peste valori de 1 000 mg% produce pancreatită (2). În același sens, Farmer (5) comunică că la pacienții cu HLP și pancreatită acută, instituirea unui regim net hipolipemiant (10—15 g lipide/24 h) este urmată de ameliorarea HLP și a tabloului clinic al pancreatitei. Și cazul comunicat de Davidoff (6), se înscrie în această interpretare : pe fondul unei HLP tip IV, administrarea de anticoncepționale a produs o creștere bruscă și masivă a trigliceridemiei, însoțită de tabloul pancreatitei acute.

Farmer (5) aduce în discuție ca mecanism posibil explicativ al HLP și factorul genetic pe care, deși nu l-a putut dovedi, nu trebuie ignorat.

Rolul alcoolului se va discuta în capitolul următor. Atunci cînd anamneza îi relevă prezența, trebuie luat în considerație (7).

În literatură se consemnează și alte postulări ale acestei probleme (1) :

— HLP ar produce „xantoame" pancreatice ; ele fiind în continuare răspunzătoare de tabloul pancreatitei ;

— ateromul arterei pancreatice, cauză a HLP, ar fi elementul patogenetic esențial în producerea pancreatitei ;

— ipoteza trombilor grași intrapancreatici a fost amintită cu ocazia HLP familială tip I, dar trebuie menționat faptul că ar putea fi invocată și în cazul HLP tip V și mai rar IV.

Scanned with OKEN Scanner

VI.7. HIPERLIPOPROTEINEMIA ALCOOLICĂ

VI.7.1. CADRUL NOSOLOGIC

HLP alcoolică cuprinde anomaliile metabolismului lipidic şi lipoproteinic, induse de consumul cronic sau acut de alcool, şi manifestate mai frecvent prin — HLP tip IV, tip II B sau mai rar tipul V.

Primele referiri asupra anomaliilor metabolismului lipidic produse de alcool sub forma HL şi ficatului gras, le avem de la Huss şi Rokitansky (citaţi de 1). În 1957, Albrink şi Klatskin au descris HL indusă de consumul de alcool (2). Un an mai tîrziu, Zieve, comunică asocierea HL, icter, anemie hemolitică. Sub numele de „sindromul Zieve", acesta a intrat în circulaţie mondială. În deceniul VII şi VIII al secolului nostru, studiile asupra HL alcoolice se înmulţesc (4,5—12).

În prezent este foarte important să semnalăm apariţia HL nu numai în contextul unui consum crescut de alcool, încît tabloul clinic al pacientului să fie etichetat ca „alcoolism". Anomalia apare în cadrul aşa-zisului „consum monden" de alcool, în care cantităţi mici sînt ingerate zilnic. Se pare că această formă de inducere a HL este mai frecventă.

Tabelul VI.11

Consumul anual de alcool în unele ţări (litru pe cap de locuitor) (după Forsander — 1)

Tara	1950 1952	1971
Franţa	—	16,7
Italia	9	13,9
R.F.G.	3,1	12,3
Spania	7	12
Austria	6,5	11,4
Argentina	8	10,9
Ungaria	6	9,5
Anglia	4,8	6,7
S.U.A.	7,2	6,3
Polonia	2,3	5,9
Suedia	3,6	5,7
U.R.S.S.	1,9	2,3

Oricum am privi lucrurile, HL trebuie situată în contextul general al consumului de alcool, problema care preocupă nutriţionişti, psihiatri, hepatologi, sociologi şi economişti. Aceasta cu atît mai mult, cu cît privind tabelul VI, remarcăm tendinţa generală de creştere a consumului de alcool

Scanned with OKEN Scanner

în lume. Pentru a interpreta semnificaţia consumului de alcool în patologia umană, discuţia trebuie să abordeze şi problema alimentaţiei şi a arteroscleroze. Iată deci că HLP alcoolică nu este decît o secvenţă dintr-o vastă şi importantă problemă socio-medicală, a zilelor noastre.

VI.7.2. TABLOUL CLINIC ŞI BIOCHIMIC

Anomalia apare la alcoolici, cu o frecvenţă de 10% (Carlson, citat de 10), fiind predominantă la bărbaţi. Anamneza, care uneori întîmpină dificultăţi, relevă consumul de alcool în antecedentele apropiate ale bolnavului. Rareori alcoolismul poate fi semnalat şi la rudeniile de gradul I sau II.

Tabloul clinic este determinat de :

— alcoolism : rubeoză, tulburări de comportament, hepatopatie, patologie cardio-vasculară concomitentă şi, mai rar, de HL—HLP sau pancreatită.

— Xantoamele sînt rare sau lipsesc, iar atunci cînd există sînt de tip eruptiv (10).

— Durerile abdominale recurente sînt semnalate frecvent de Nestell (8) şi rar de către Chait (10). Uneori se poate suspecta diagnosticul de pancreatită.

— Hepatomegalia ca martor al steatozei hepatice este frecventă (3, 5, 6, 8—11).

Tabloul biochimic este variat. Posibilităţile cele mai frecvente de diagnostic biochimic sînt :

— hipertrigliceridemie + hiper VLDL = HLP tip IV ;

— hipertrigliceridemie + hiperchilomicronemie = HLP tip V ;

— hipertrigliceridemie + hipercolesterolemie + hiper VLDL + hiper LDL = HLP tip II b.

Suprimarea aportului alcoolic timp de 4—6 zile reduce valorile trigliceridelor, VLDL şi chilomicronilor, fără a influenţa hipercolesterolemia sau LDL. După această perioadă de abstinenţă, reintroducerea lui induce din nou HL—HLP (11,30).

Concomitent se semnalează hiperlactacidemie, hiperuricemie, hipernormo- sau hipoglicemie.

Uneori funcţia hepatică sau pancreatică este alterată.

Puncţia biopsie hepatică confirmă în cele mai multe cazuri steatoza. Studiind conţinutul în lipide al ficatului la alcolici Lindquist (13) găseşte fie valori normale, fie în marea majoritate a cazurilor creşterea lor. Trigliceridele şi raportul trigliceride/fosfolipide sînt crescute.

VI.7.3. PATOLOGIE BIOCHIMICĂ ŞI FIZIOPATOLOGIE

Înţelegerea mecanismelor de producere ale HLP alcoolică presupune o discuţie prealabilă asupra metabolismului alcoolului la nivelul ficatului (14—24) (fig. VI.11).

Etanolul este oxidat fie în citoplasmă, fie în microsomi. Două enzime sînt răspunzătoare de această catalizare : alcooldehidrogenaza şi aldehid-

Scanned with OKEN Scanner

dehidrogenaza. Prima enzimă transformă etanolul în acetaldehidă, iar cea de-a doua catabolizează formarea în continuare a acetatului. În cursul acestor două reacții se formează NADH. De reținut că există o variație intraindividuală a activității alcooldehidrogenazei (creșterea ei progresiv

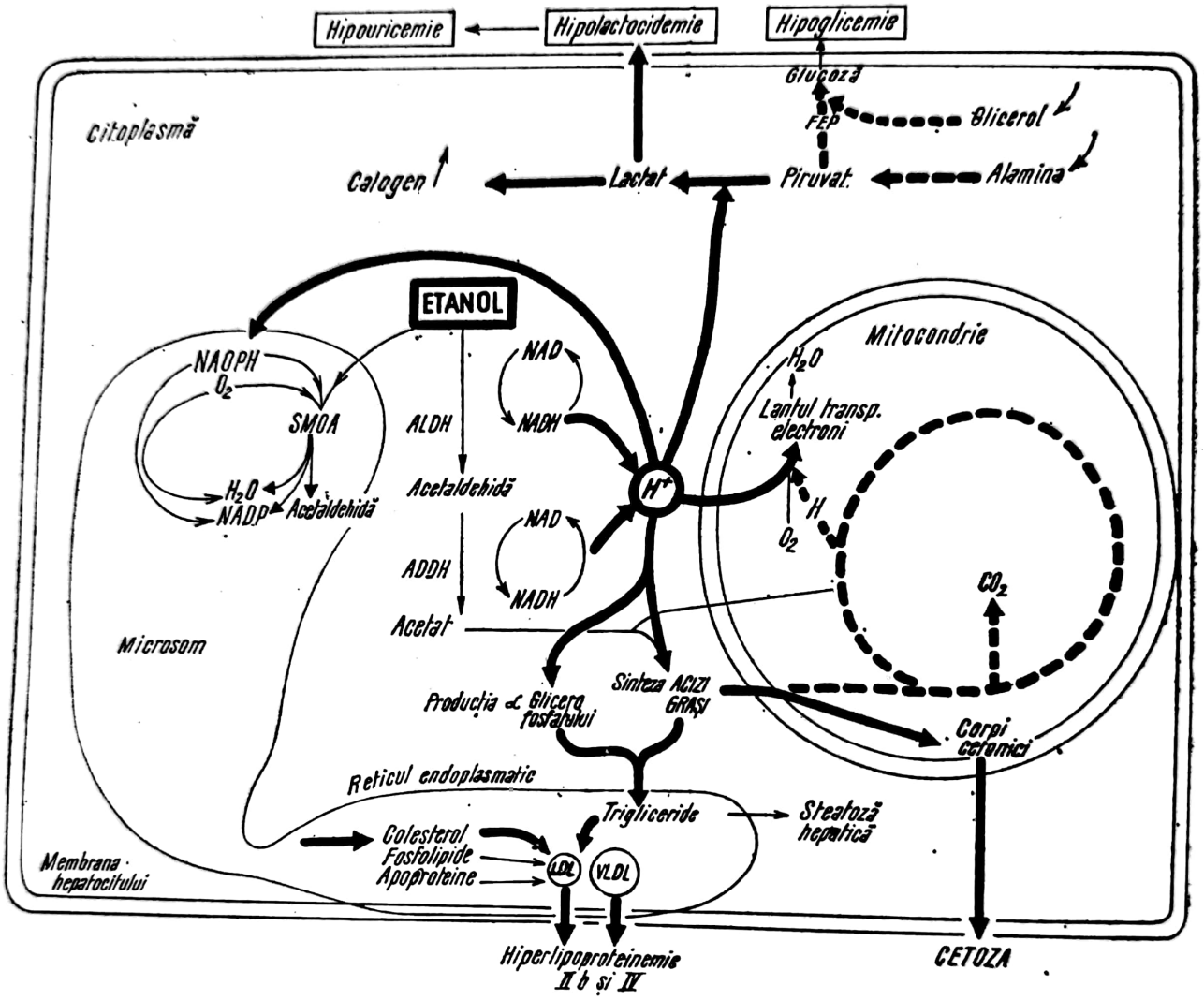


Fig. VI.11. — Metabolizarea etanolului la nivelul hepatocitului și efectele sale asupra lipogenezei, colesterologenezei, lipoproteinogenezei, cetogenezei, gluconeogenezei, lactacidemiei (modificat după Lieber — 15) ;
FEP — fosfoenol piruvat ; SMOA — sistem microsomial de oxidare a alcoolului ; ALDH — alcool dehidrogenaza ; ADDH — aldehiddehidrogenaza ; calea metabolică normală ; calea metabolică inhibată ; calea metabolică exacerbată, în urma oxidării etanolului.

cu vîrsta) și o diferență interindividuală, care ar putea explica variația răspunsului lipidic și lipoproteic seric ; ingerarea de alcool a diferiților subiecți (1).

Acumularea de NADH și acetat are următoarele consecințe asupra metabolismului lipidic, corelat cu metabolismul glucidic :

— stimulează sinteza acizilor grași (14—24) concomitent cu depresia oxidării lor în ciclul Krebs, a cărei funcționalitate este, de asemenea, scăzută în cursul oxidării alcoolului ;

Scanned with OKEN Scanner

— creşte producţia de alfa-glicerofosfat, care, împreună cu acizii graşi, formează trigliceridele în reticulul endoplasmatic ;

— stimulează colesterologeneza intramicrosomială în felul acesta s-ar explica, parţial, creşterea sintezei hepatice de VLDL în special şi de LDL în subsidiar :

— exagerează cetogeneza ;

— inhibă glicoliza la două nivele : la nivelul fosfofructokinazei (inhibată de către citrat, care se găseşte în exces) şi la nivelul transformării gliceraldehidei 3-F în acid 1,3-difosfogliceric (inhibată de scăderea NAD) ;

— inhibă gluconeogeneza prin creşterea producţiei de lactat din piruvat şi blocarea reacţiei inverse, inhibiţia transformării alaninei în piruvat, blocarea introducerii glicerolului în calea GNG. Toate acestea se datoresc modificării raportului NADH/NAD.

Creşterea concentraţiei de acid lactic induce la rîndul ei, pe de o parte, inhibiţia eliminării tubulare a acidului uric şi apariţia hiperuricemiei, iar, pe de altă parte, creşterea sintezei de colagen prin stimularea activităţii colagenprolin-hidroxilazei (25). Fenomenul ar putea avea semnificaţii deosebite în apariţia steatozei hepatice şi evoluţiei sale ulterioare.

Pentru explicarea apariţiei HL şi HLP se aduc în discuţie şi efectele extrahepatice ale alcoolului :

a) reducerea activităţii LPL. Fenomenul este extrem de controversat (1, 5—7, 8, 11, 14). Unii autori îl invocă ca mecanism principal, în timp ce alţii neagă existenţa sa. Se pare totuşi că asistăm la o tulburare latentă, subclinică, a captării periferice a TG din VLDL şi chilomicroni (11). Barboriak şi Meade (29) au demonstrat că prin administrarea preprandială de alcool (whisky) se induce prelungirea şi creşterea lipemiei postprandiale (fenomenul este explicat prin reducerea episodică a activităţii LPL) ;

b) stimularea sintezei intestinale de VLDL (26), mecanism căruia astăzi i se atribuie un rol important în HL—HLP alcoolică ;

c) stimularea secreţiei de catocolamine şi glucocorticoizi (27), care induc la rîndul lor hiperlipoliză la nivelul ţesutului adipos, cu hiper AGL-mie consecutivă. De fapt, hiperlipoliza poate fi indusă de către etanol şi direct, aşa cum s-a demonstrat pe ţesutul adipos de şobolan (28). Glucocorticoizii şi catecolaminele ar putea explica hiperglicemia ce apare imediat după ingestia de alcool (27) urmată după cum se ştie de clasica hipoglicemie alcoolică ;

d) în sfîrşit, nu trebuie trecut cu vederea factorul alimentar, fiind prea binecunoscută predilecţia alcoolicilor pentru alimentaţia grasă.

În ciuda progreselor evidente realizate în acest domeniu, HL—HLP alcoolică ridică în continuare o serie de probleme (11). Care este frecvenţa reală a acestei anomalii metabolice ? Cum se explică diferenţele de reacţie individuală, la acelaşi consum de alcool ? Care este rolul transmisiei gene-

Scanned with OKEN Scanner

tice în dependența alcoolică ? Care este doza critică de alcool necesară pentru inducerea HL—HLP ? Mecanismele alcoolo-hiperlipemiante sînt unice sau variază în funcție de circumstanțe ? Se suprapun oare peste anomaliile latente ale unor HLP familiale ?

Faptul că HL poate fi indusă de alcool și la subiecții normali, ridică problema importantă a rolului jucat de consumul cotidian al dozelor mici de alcool în HL—HLP, cît și a frecvenței sale.

În ceea ce privește legătura între consumul de alcool și ateroscleroză KUO și colab. (30) stabilesc că alcoolul nu este un factor cauzal specific în geneza aterosclerozei, dar că ansamblul modificărilor produse în organism pot precipita producerea ei. În afară de hiperlipidemie, noi credem că alcoolul ar trebui invocat în aterogeneză și datorită stimulării colagenogenezei. Această anomalie demonstrată la nivelul ficatului nu poate fi exclusă la nivelul peretelui arterial.

VI.7.4. SINDROMUL ZIEVE

Descrierea separată a sindromului Zieve o motivăm prin faptul că acest sindrom s-a conturat ca o entitate de sine stătătoare, deși unii autori contestă independența sa nosologică.

Sindromul este rar întîlnit, apare la băutorii cronici sau intermitenți de alcool și se manifestă prin triada clasică : icter, anemie, HL, în care se adaugă astenie, dureri abdominale nesistematizate, hepatomegalie de regulă cu caracter de steatoză (12).

Icterul apare prin creșterea bilirubinei conjugate, concomitent cu fosfataza alcalină, denotînd caracterul său colostatic. Anemia este de tip hemolitic, normocrom, macrocitar (12).

HL este de tip mixt, hipertrigliceridemia predominînd asupra hipercolesterolemiei. Ea are caracter tranzitoriu în funcție de sevrajul alcoolic (12). Zieve (3) afirmă și creșterea fosfolipidelor în cadrul cărora remarcăm augmentarea lecitinei.

În producerea bolii, exceptînd intoxicația alcoolică, se invocă un mecanism pancreatic, declanșat de excesul alcoolic (12). Ar putea fi vorba de o enzimopatie pancreatică latentă pe care alcoolul o validează pe plan biologic și clinic.

Anemia are următoarea explicație : pancreasul lezat produce o cantitate mare de fosfolipază A, care transformă lecitina în lizolecitină, aceasta avînd efect hemolitic (12). HL nu poate fi făcută răspunzătoare de producerea anemiei, din moment ce după dispariția ei anemia persistă încă mult timp (12).

În figura VI.12, reproducem după Sudie (12), ipoteza mecanismelor patogenetice în sindromul Zieve.

Scanned with OKEN Scanner

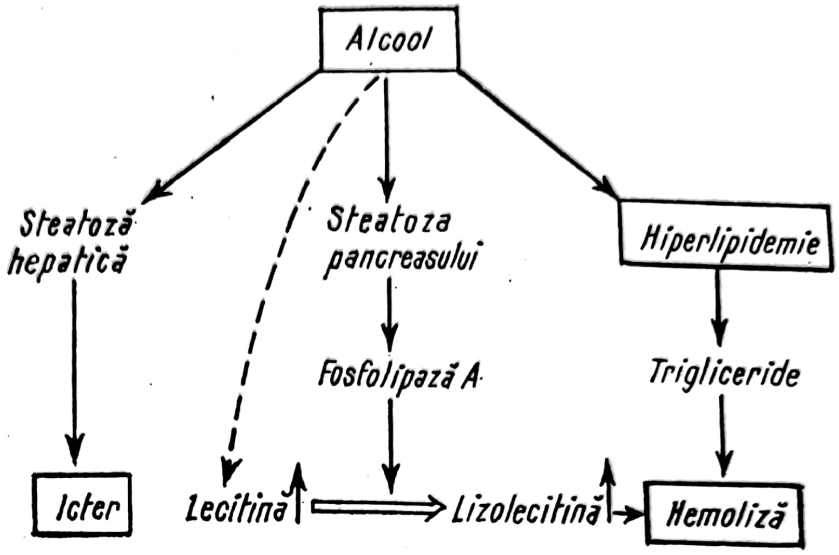


Fig. VI.12 — Patogenia sindromului Zieve (modificat după Sudie şi colab., 12).

VI.8. HIPERLIPOPROTEINEMIA DE STRESS

VI.8.1. INTRODUCERE — CADRUL NOSOLOGIC

Tulburările metabolismului lipidic şi lipoproteinic legate de sistemul nervos central sînt cunoscute de mulţi ani atît în patologia umană, cît şi la animale (în condiţii experimentale). Totuşi, hiperlipoproteinemia de *stress* este o noţiune relativ nouă, legată de conceptul lui Selye. Ritmul vieţii moderne, creează, din nefericire, un cadru perfect pentru urmărirea efectelor *stress*-ului mai ales sub aspectul *stress*-ului psihic (1). Efectele metabolice ale acestuia, vizează mai multe sectoare, dar cu certitudine. unul din cele mai importante îl reprezintă lipidele şi lipoproteinele serice şi/sau parietovasculare. De fapt, din filiaţia HL-HLP-ateroscleroză adesea indusă pe această cale, rezultă marea importanţă a „condiţiilor" şi „stărilor" *stress*-ante din viaţa omului contemporan şi probabil a omului de mîine.

VI.8.2. TABLOUL CLINIC ŞI BIOCHIMIC

Nu se poate descrie un tablou clinic caracteristic HLP indusă de *stress*. Diagnosticul este pur biochimic deoarece rareori se evidenţiază stigmatele dermatologice caracteristice. Uneori, pe prim plan se află patologia cardio-vasculară, care în felul acesta ne atenţionează asupra posibilei existenţe a HL-HLP. Anamneza relevă însă cu exactitate condiţiile *stress*-ante ale bolnavului. În cele mai multe cazuri, examenul clinic dirijat, evidenţiază un „tip comportamentul A" (10, 18). Este vorba de bolnavi a căror viaţă se caracterizează prin : exces de competitivitate, ambiţie, agresivitate (adeseori refulată), impacientare, urgenţă şi accele-

rare în efectuarea activităţilor comune, hiperalertare, vorbire colocvială explozivă. La aceşti bolnavi se remarcă : hipertonia musculaturii faciale, senzaţia de luptă împotriva limitării timpului şi a insensibilităţii la mediu. Bolnavii doresc să obţină tot mai mult într-un timp cît mai scurt. Din acest motiv, sînt angajaţi într-o luptă cronică şi excesivă cu ambianţa şi persoanele înconjurătoare cu care adesea au interese comune.

Tabloul biochimic este variat şi se caracterizează prin HLP tip II A, II B şi IV care evoluează cu hipercolesterolemie, hipertrigliceridemie sau hiperlipidemie mixtă (2—7). Hiper AGL-mia este, de asemenea, frecventă.

La subiecţii din „tipul comportamental A" s-au evidenţiat şi alte anomalii (10) : scăderea toleranţei la glucide, hiperinsulinism, hiperuricemie, creşterea eliminării urinare a catecolaminelor, scăderea secreţiei STH-ului, descărcări cronice de ACTH.

VI.8.3. PATOLOGIE BIOCHIMICĂ ŞI FIZIOPATOLOGIE

Pentru descifrarea mecanismelor hiperlipidemiante consecutive *stress-ului* este necesar să analizăm separat producerea hipertrigliceridemiei şi a hipercolesterolemiei.

Hipertrigliceridemia de *stress* apare în special legată de hipermobilizarea AGL de la nivelul ţesutului adipos (8), care sînt rapid reesterificaţi la nivelul hepatocitului (9). Mecanismele răspunzătoare de activarea trigliceridlipazei intraadipocitare sînt legate de sistemul nervos simpatic şi axul hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenal. În acest sens, Carlson (11) demonstrează hiperAGL-mia indusă de catecolamine, urmată de creşterea trigliceridelor intrahepatocitare. Totuşi, studii cantitative nu relevă o corelaţie netă între HLP indusă de *stress* şi catecolamine (3). Probabil că nu dispunem încă de metode capabile de evidenţierea unor modificări catecolaminice de finete.

Recent (12), se demonstrează că administrarea unor doze mici de catecolamine la om nu modifică AGL-mia. Acesta este un argument în favoarea factorului cantitativ şi cronologic din relaţia catecolamine-HLP.

Interpretarea hipercolesterolemiei de *stress* este mult mai dificilă. Ar putea fi vorba de o hipercolesterolemie de însoţire în cadrul hiper-AGL-TG-VLDL, dar nu se exclud nici mecanisme hipercolesterolemiante independente.

Lucrările lui Friedman şi colab. (13—17) se înscriu în această idee. La şobolanii cărora li s-a provocat hipercolesterolemie prin excitarea electrică cronică a nucleilor hipotalamici laterali şi ventro-mediani bilaterali, nu se evidenţiază modificări ale fluxului biliar (13), ale funcţiilor de sinteză sau absorbţie colesterolică (15), endocrine (beta-insular, hipofizar, tiroidian, testicular şi suprarenal). Echilibrul secvenţelor „input-output" din metabolismul colesterolului este perturbat la nivelul : metabolismul colesterolului din chilomicroni (17) ; catabolismul hepatic al colesterolului, în etapele de transformare în acizi biliari (16). În acest sens, *clearence*-ul colesterolului exo- şi endogen apare încetinit (15).

Scanned with OKEN Scanner

Mecanismele hiperlipiproteinemice în *stress* trebuie corelate cu mecanismele hipertrigliceridemiante și hiperlipoproteinemiante și, împreună cu acestea, cu celelalte modificări biochimice caracteristice „tipului comportamental A".

Hipertrigliceridemia și hipercolesterolemia combinate în diferite constelații hiperlipoproteinice explică apariția HLP tip II a, II b și IV. Faptul că tipul IV și II b sînt mai frecvente, este o dovadă în plus a corelației interlipidice intrahepatocitare. Elementul patogenetic esențial se caracterizează însă prin :

— creșterea secvenței „input" din metabolismul trigliceridelor ;
— scăderea secvenței „output" din metabolismul colesterolului.

La nivelul metabolismului lipoproteinic aceste fenomene apar sumate astfel încît realizarea unor HLP II a, II b și IV apare ca logică.

HLP de *stress* trebuie situată în contextul celorlalți factori hiperlipoproteinemianți și/sau aterogeni : sedentarism, patoalimentație excesivă — obezitate, alcoolism, fumat, cafea. Acest grupaj „monden" contribuie din plin la perpetuarea „tipului comportamental A", el însuși caracterizat printr-un evident potențial hiperlipoproteinemiant.

VI. 9. HIPERLIPOPROTEINEMIA DIN DIABETUL ZAHARAT, OBEZITATE ȘI PATOALIMENTAȚIA EXCEDENTARĂ

VI.9.1. INTRODUCERE — CADRUL NOSOLOGIC

Acest grup de HLP primare are o frecvență deosebit de crescută. Deși aparent aceste HLP sînt diferite, tratarea lor grupată se face din următoarele raționamente :

— clinice : asocierea frecventă a obezității (cauzată de patoalimentația excedentară) cu diabetul zaharat și HLP ;

— patogenetice : existența unei certe legături patogenetice între aceste boli ;

— epidemiologice : investigații de anvergură demonstrează creșterea în rîndul populației generale a acestui „grupaj" de boli.

Pînă nu demult, exista tendința de a încadra HL-HLP din diabetul zaharat, obezitate și supraalimentațiile în categoria HLP secundare. Reconsiderarea lor nosologică este rodul acumulării de noi date patogenetice care, deși sînt insuficiente în elucidarea mecanismului lor intim de producere, ne permit cel puțin o reorientare taxonomică.

În figura VI.13, este redată, conform teoriei seturilor (algebra lui Boolen), asociația : patoalimentație excedentară, HL-HLP, diabet zaharat, obezitate, avînd ca finalitate aterosoleroza. În determinismul acestei „asociații" sau al bolilor care o compun, intervin factori genetici și ecologici. Se presupune existența unei dereglări care afectează mai multe genoame.

Scanned with OKEN Scanner

Nu este exclusă existența unui fond genetic predispozant pentru ateroscleroză, independent de HLP, obezitate sau diabet zaharat.

În felul acesta se conturează unul din aspectele cele mai frecvente și în același timp cele mai agresive ale patologiei prosperității : hiperlipoproteinemia-obezitatea-diabetul zaharat-ateroscleroza. Afectînd în mod impresionant „prosperitatea biologică" a omului de azi și a celui de mîine, prevenirea și tratarea acestor boli reprezintă obiective majore ale medicinei moderne.

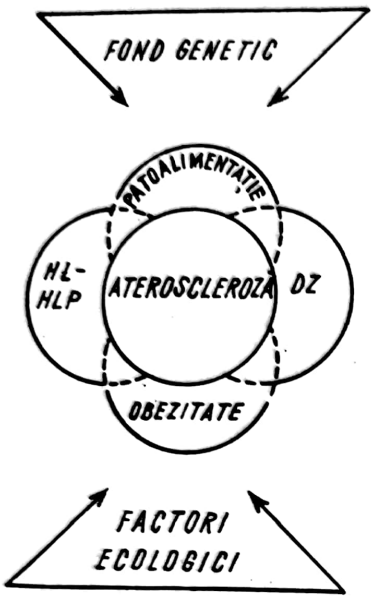


Fig. VI.13. — Asociația patoalimentației, hiperlipidemie, hiperlipoproteinemie (HL-HLP) — diabet zaharat (D.Z.) — Obezitate — Ateroscleroză. Teoria seturilor conform algebrei lui Boolen (modificat după Hâncu — 4).

În virtutea acestei argumentări, sistematizarea capitolului o concepem astfel :

— analiza HL-HLP din diabetul zaharat ;

— analiza HL-HLP din obezitate și patoalimentație excedentară ;

— privire integrativă asupra HL-HLP din diabetul zaharat, obezitate și patoalimentație excedentară.

VI.9.2. HIPERLIPIDEMIA — HIPERLIPOPROTEINEMIA DIN DIABETUL ZAHARAT

A. CONSIDERAȚII GENERALE

Asociația diabetului zaharat cu hiperlipidemia a fost sesizată încă din anul 1799 (2), ulterior, lactescența serului fiind frecvent observată în diabetul zaharat cu acidoză. La început, HL din diabetul zaharat a fost interpretată drept consecință a deficitului insulinic (hiperlipidemie secundară), apoi din anul 1955, după semnalarea efectuată de Adlesberg și Wang (3) apare cu claritate și posibilitatea existenței hiperlipidemiei primare în diabetul zaharat. În deceniul VII și VIII al secolului nostru asistăm la o explozie informațională, cu referință la acest subiect. Ea este declanșată pe de o parte de filiația certă dintre HL-HLP și angiopatia diabetică (macroangiopatie în special) și, pe de altă parte, de conceptul HLP lansat de Fredrickson.

În prezent se consideră că relația HL-HLP și diabetul zaharat trebuie privită din două puncte de vedere :

— HL-HLP secundară deficitului insulinic din diabetul zaharat, care în aceste cazuri ne apare dezechilibrat, decompensat în forma sa severă cu hiperglicemie, glicozurie, cu sau fără cetoacidoză ;

— HL-HLP primară asociată unui diabet zaharat „echilibrat" cu hiperglicemie și glicozurie moderată sau chiar absentă ; oricum cetoacidoza este exclusă.

Scanned with OKEN Scanner

Această sistematizare are avantajul unei orientări de ansamblu, dar nu poate acoperi complexitatea problemei. Deficiențele ei sînt cauzate de :

— Termenul de „diabet zaharat echilibrat" este extrem de controversat deoarece glicemia și glicozuria ca parametri martori ai echilibrării diabetului sînt în parte infideli sau cel puțin insuficienți (4, 188). În acest sens, s-a presupus chiar existența HL-HLP ca martor al dezechilibrului metabolic din diabetul zaharat, manifestată concomitent, sau asincron, în comparație cu perturbarea metabolismului glucidic (4). În acest caz, în lipsa antecedentelor eredocolaterale, avem oare vreun element de diagnostic pozitiv cert al caracterului primar al HLP ? Criteriul propus de Miss, Jahnke și Gries (6 a), conform căruia prin echilibrarea diabetului se obține normalizarea lipidelor și lipoproteinelor serice în decurs de 6—8 ore, nu ni se pare fără echivoc.

— În accepțiunea existenței unei HLP primare în diabetul zaharat, decompensarea acestuia poate induce un tablou biochimic (uneori și clinic) nou, care să mascheze HLP primară preexistentă (2).

— Problema devine mai complexă, prin extinderea conceptului hipolipoproteinemiilor, defalcat, pentru diabetul zaharat de tip juvenil și de tip adult. Diabetul zaharat juvenil insulino-dependent, debutat în copilărie, evoluînd cu repetate episoade cetoacidozice, poate fi comparat cu diabetul zaharat de tip adult, debutat după 40 de ani, de regulă la foști sau actuali obezi, cetorezistenți, fără necesități de insulină, tratat deseori numai prin regim restrictiv caloric și glucidolipidic ? Sînt oare acestea tablouri extreme ale aceleiași boli ? Sau reprezintă două boli distincte, aflate în curs de definire nosologică ? Iată întrebări ale diabetologiei care împiedică deocamdată certitudinile în încadrarea nosologică a relației diabet zaharat — hiperlipoproteinemie.

În figura VI.14, reprezentăm schematic posibilitățile teoretice de asociație a tulburărilor de glicoreglare (scăderea toleranței la hidrați de carbon, diabet zaharat genetic sau cîștigat) cu hiperlipoproteinemia (familială, primară nonfamilială sau secundară decompensării diabetului zaharat).

Multe din aceste asociații sînt cunoscute. O parte însă, sînt mai rare, iar altele chiar contestate. Așa de exemplu este DZ ereditar asociat cu HLP familială. Noi am intuit existența acestei asociații mai demult ; comentariul patogenetic din capitolul VI.9.5. are în vedere posibilitatea acestei asociații. Era totuși foarte greu de demonstrat o astfel de anomalie. Recent Brunzell și colab. (192) reușesc acest lucru și afirmă totodată că diabetul și HLP nu sînt legate de afectarea aceleiași gene.

Această observație preluată și de alți autori (193), întărește justețea orientării noastre taxonomice vizînd HLP și diabetul zaharat.

În capitolul VI.1—5, s-a discutat relația HLP familiale — tulburări de glicoreglare. În subcapitolele următoare se vor analiza hiperlipoproteinemiile din diabetul zaharat manifest, prediabet, diabetul zaharat chimic și latent. Este vorba atît de HLP secundare decompensării diabetului zaharat, cît și de HLP primare asociate diabetului zaharat „echilibrat". Deși această sistematizare are unele inconveniente taxonomice, o preferăm în fața importanței deosebite pe care o are diabetul zaharat.

Scanned with OKEN Scanner

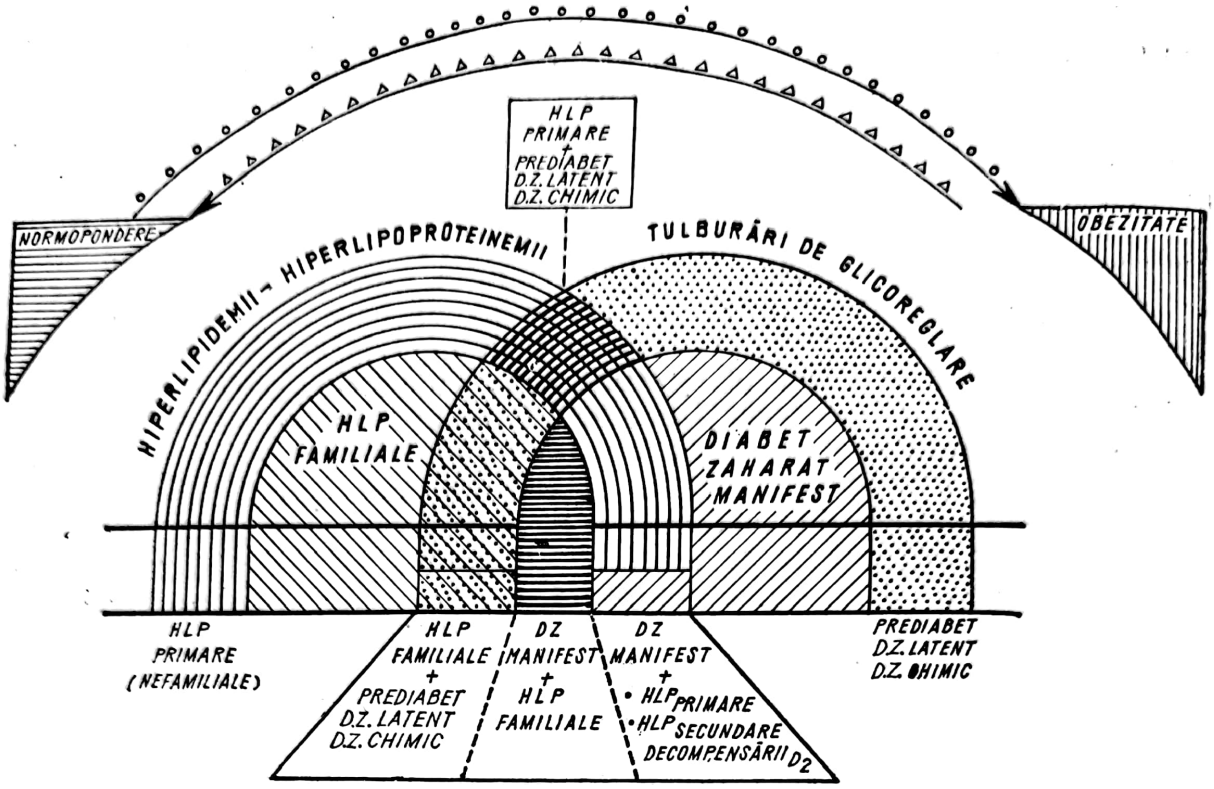


Fig. VI.14. — Posibilităţi teoretice de asociaţie a tulburărilor metabolismului glucidic (scăderea toleranţei la glucide şi diabet zaharat manifest cu hiperlipoproteinemii (familiale, primare sau secundare decompensării diabetului zaharat). Obezitatea poate fi prezentă în oricare din aceste asociaţii.

Tabelul VI.12

Prevalenţa hiperlipoproteinemiei în diabetul zaharat nou depistat (160 bolnavi) şi la diabeticii cu vechimea bolii între 5 şi 10 ani (160 bolnavi). La ambele grupe s-a exclus cetoacidoza

Diabet zaharat nou depistat				Diabet cu vechimea bolii între 5 şi 10 ani			
Tipul de HLP	Nr. de cazuri	% raportat la total DZ	% raportat la total DZ + HLP	Tipul de HLP	Nr. de cazuri	% raportat la DZ	% raportat la DZ + HLP
II a	10	6,25	18,66	II a	17	10,6	17,3
II b	6	3,75	11,32	II b	12	7,56	12,2
III	4	2,50	7,54	III	7	4,05	7,3
IV	30	18,75	56,61	IV	56	32,5	53
V	3	1,87	5,67	V	10	6,2	10,2
Total	53	33,12	100 %	Total	98	61 %	100 %

B. TABLOUL CLINIC

Hiperlipoproteinemia poate apărea în orice formă de diabet zaharat şi în oricare din fazele sale evolutive (4). Tabloul clinic este dominat de boala de bază. Ca manifestări specifice se pot întîlni : xantomatoza şi *lipemia retinalis*, durerile abdominale, necrobioza lipoidică, steatoza hepatică şi manifestările clinice ale angiopatiei diabetice (fig. VI.15, VI.16 şi tabelele VI.13, 14, 15).

Xantomatoza. În diabetul zaharat însoţit de HL—HLP, se pot întîlni oricare din tipurile de xantoame descrise în cazul HLP familiale

Scanned with OKEN Scanner

Forma clinică de diabet	Nr. total	Sex				Vîrsta (ani)						
		B		F		< 29		30–49		>50		N
		Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.
De maturitate	28	11	39,2	17	60,8	—	—	19	67,8	9	32,2	2
Juvenil	24	8	33,3	16	66,7	14	58,3	10	41,7	—	—	4
Chimic	9	5	55,5	4	44,5	2	22,2	7	77,8	—	—	—
Prediabet	2	—	—	2	100,0	—	—	2	100,0	—	—	—
Secundar	1	1	100,0	—	—	—	—	1	100,0	—	—	1
Total	64	25	39,0	39	61,0	16	25,0	39	60,9	9	14,1	7

LEGENDA

B – bărbați
F – femei
ND – nou depistați
NP – normoponderal (±10%)
SP – subponderal (−10−15%)
OB – obezitate (+20%)

Ma – macroangiopatie
Mi – microangiopatie
R – regim
S – sulfamide
Bi – biguanide
I – insulină
As – asociat (S + Bi)

Forma clinică de diabet	Nr. total	Sex				Vîrsta (ani)						
		B		F		< 29		30–49		> 50		ND
		Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.
De maturitate	9	5	55,5	4	44,5	—	—	5	55,5	4	44,5	1
Juvenil	13	4	30,7	9	69,3	10	76,9	3	23,1	—	—	2
Chimic	5	1	20,0	4	80,0	—	—	4	80,0	1	20,0	—
Latent	1	—	—	1	100,0	—	—	1	100,0	—	—	—
Total	28	10	35,8	18	64,2	10	35,8	13	46,4	5	17,8	3

LEGENDA

B – bărbați
F – femei
ND – nou depistat
NP – normoponderali (±10%)
SP – subponderali (−10−15%)
OB – obezitate (+20%)

Ma – macroangiopatie
Mi – microangiopatie
R – regim
S – sulfamide
Bi – biguanide
I – insulină
As – asociat (S + Bi)

Forma clinică de diabet	Nr. total	Sex				Virstă (ani)						
		B		F		> 29		30 – 49		<50		ND
		Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.
De maturitate	8	6	75,0	2	25,0	1	12,5	4	50,0	3	37,5	—
Chimic	2	—	—	2	100,0	—	—	2	100,0	—	—	—
Latent	1	1	100,0	—	—	—	—	1	100,0	—	—	—
Total	11	7	63,6	4	36,4	1	9,1	7	63,6	3	27,3	—

LEGENDA

B – bărbați
F – femei
ND – nou depistat
NP – normoponderali (±10%)
SP – subponderali (−10−15%)
OB – obezitate (+20%)
Mi – microangiopatie

R – regim
S – sulfamide
Bi – biguanide
I – insulină
As – asociat (S + Bi)

Scanned with OKEN Scanner

Partieu

Vîrsta (ani)					Vechimea diabetului								Situația ponderală				
29	30–49		>50		ND		1–4 ani		5–9 ani		> 10 ani		NP		SP		
%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Ni
—	19	67,8															
58,3	10	41,7	9	32,2	2	7,2	7	24,7	9	32,2	10	35,9	4	14,5	17	60,8	
22,2	7	77,8	/	—	4	16,7	4	16,7	2	8,3	14	58,3	8	33,3	10	41,7	6
—	2	100,0	/	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	22,2	—	—	
—	1	100,0	/	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	50,0	1	50,0	
			/	—	1	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
25,0	39	60,9	9	14,1	7	10,9	11	17,2	11	17,2	24	37,5	15	23,4	28	43,7	21

macroangiopatie
microangiopatie
regim
sulfamide
biguanide
insulină
asociat (S + Bi)

Partieul

Vîrsta (ani)					Vechimea diabetului								Situația ponderală				
	30–49		>50		ND		1–4 ani		5–9 ani		> 10 ani		NP		SP		
%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.
—	5	55,5	4	44,5	1	11,2	2	22,2	3	33,3	3	33,3	1	11,2	5	55,5	3
,9	3	23,1	—	—	2	15,5	3	23,1	4	30,7	4	30,7	1	7,6	10	76,9	2
—	4	80,0	1	20,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5
—	1	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
8	13	46,4	5	17,8	3	10,7	5	17,8	7	25,0	7	25,0	2	7,2	15	53,5	11

macroangiopatie
microangiopatie
regim
sulfamide
biguanide
insulină
asociat (S + Bi)

Particular

Vîrstă (ani)					Vechimea diabetului								Situația ponderală				
	30–49		<50		ND		1–4 ani		5–9 ani		< 10 ani		NP		SP		
	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.
	4	50,0	3	37,5	—	—	1	12,5	5	62,5	2	25,0	1	12,5	3	37,5	4
	2	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2
	1	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
	7	63,6	3	27,3	—	—	1	9,1	5	45,5	2	18,2	1	19,1	3	27,3	7

Scanned with OKEN Scanner

Particularităţi clinice ale diabeticilor cu HLP tip II a

> 10 ani		Situaţia ponderală						Angiopatie								Hepato
		NP		SP		OB		Ma coronariană		Alte Ma		Mi		Ma + Mi		
Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.
10	35,9	4	14,5	17	60,8	7	24,7	4	14,5	4	14,5	9	32,2	7	24,7	6
14	58,3	8	33,3	10	41,7	6	25,0	1	4,2	—	—	8	33,3	1	4,2	8
—	—	2	22,2	—	—	7	77,8	3	33,3	2	22,2	2	22,2	2	22,2	5
—	—	1	50,0	1	50,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
—	—	—	—	—	—	1	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	1
24	37,5	15	23,4	28	43,7	21	32,9	8	12,5	6	9,3	19	28,1	10	15,6	21

Particularităţi clinice ale diabeticilor cu HLP tip II b

10 ani		Situaţia ponderală						Angiopatie								Hepato
		NP		SP		OB		Ma coronariană		Alte localizări Ma		Mi		Ma + Mi		
%		Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.
33,3	1	11,2	5	55,5	3	33,3	2	22,2	—	—	2	22,2	1	14,2	2	
30,7	1	7,6	10	76,9	2	15,5	1	7,6	1	7,6	3	23,1	1	7,6	4	
—	—	—	—	—	5	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	1	
—	—	—	—	—	1	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
25,0	2	7,2	15	53,5	11	39,3	3	10,7	1	3,5	5	17,8	1	3,5	7	

Particularităţi clinice ale diabeticilor cu HLP tip IV

ni		Situaţia ponderală						Angiopatie								Hepatom
		NP		SP		OB		Ma coronariană		Alte Ma		Mi		Ma + Mi		
%		Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.
25,0	1	12,5	3	37,5	4	50,0	3	37,5	1	12,5	3	37,5	2	25,0	1	
—	—	—	—	—	2	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
—	—	—	—	—	1	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
18,2	1	19,1	3	27,3	7	63,6	3	27,3	1	9,1	3	27,3	2	18,2	1	

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul

+ Mi		Hepatomegalie		Xantome								Dureri abdominale		Tipul de tratament									
				Xantelasme		Papuloeruptive		Tendinoase		Tuberoase				R		S		Bi		I		As	
%		Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%
24,7		6	21,7	9	32,2	—	—	10	35,9	—	—	10	35,9	4	14,5	10	35,9	5	17,4	9	32,7	—	—
4,2		8	33,3	2	8,3	—	—	4	16,7	—	—	9	37,5	—	—	—	—	—	—	24	100,0	—	—
22,2		5	55,5	3	33,3	—	—	2	22,2	1	11,1	3	33,3	9	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—
—		1	50,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—		1	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	1	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
15,6		21	32,9	14	21,8	—	—	16	25,0	1	1,5	23	35,9	13	20,3	10	15,6	5	7,8	33	51,5	1,5	—

Tabelul VI-14

Mi		Hepatomegalie		Xantome								Dureri abdominale		Tipul de tratament									
				Xantelasma		Papuloeruptie		Tendinoase		Tuberoase				R		S		Bi		I		As	
%		Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%
4,2		2	22,2	3	33,3	—	—	2	22,2	1	11,2	3	33,3	1	11,1	4	44,5	1	11,1	2	22,2	1	11,1
7,6		4	30,7	1	7,6	—	—	3	23,1	2	15,5	4	30,7	—	—	—	—	—	—	13	100,0	—	—
—		1	20,0	2	40,0	—	—	2	40,0	—	—	2	40,0	5	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—
—		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3,5		7	25,0	6	21,4	—	—	7	25,0	3	10,7	10	35,8	6	21,4	4	14,4	1	3,5	15	53,5	1	3,5

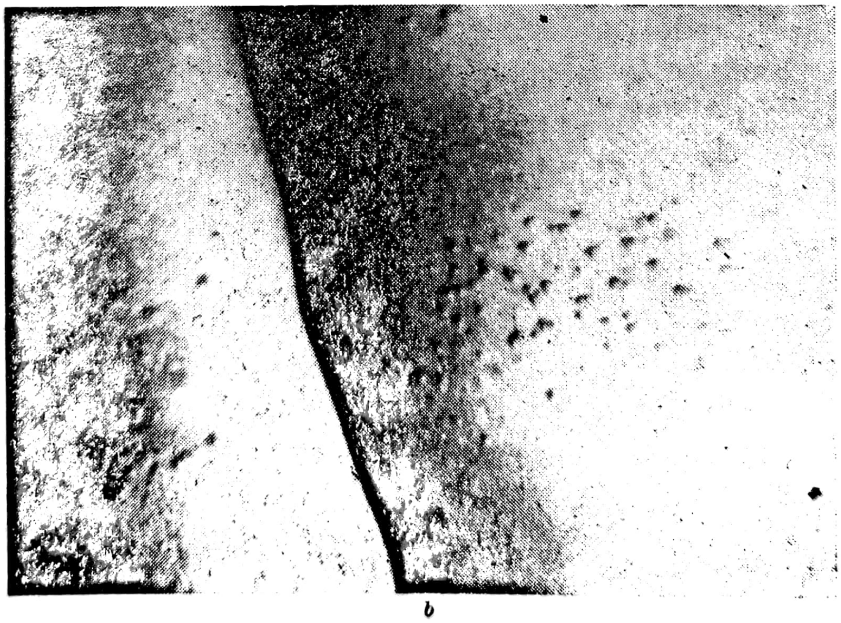
Tabelul VI-15

		Hepatomegalie		Xantoame								Dureri abdominale		Tipul de tratament									
				Xantelasme		Papuloeruptive		Tendinoase		Tuberoase				R		S		Bi		I		As	
%		Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%
0		1	12,5	—	—	—	—	—	—	1	12,5	2	25,0	2	25,0	4	50,0	2	25,0	—	—	—	—
—		—	—	1	50,0	—	—	—	—	—	—	—	—	2	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—
—		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2		1	9,1	1	9,1	—	—	—	—	1	9,1	2	18,2	4	36,4	4	36,4	2	18,2	—	—	—	—

Scanned with OKEN Scanner

(6). Mai frecvente sînt xantoamele papulo-eruptive (*xantoma diabeticorum*). Cu o frecvență aproximativ egală se notează prezența xantoamelor tendinoase, tuberoase, planare, cît și a xantelasmelor. Cercetările lui Parker și colab. (7) demonstrează că în xantoamele papulo-eruptive, originea lipidelor este predominant chilomicronică.

a



b

Fig. VI.15. — Xantoame eruptive la doi bolnavi cu diabet zaharat de tip juvenil și HLP tip IV.

Lipemia retinalis. Este o complicație rară a diabetului zaharat necontrolat (8). La „Joslin Clinic" din Boston, s-a evidențiat la 22 de diabetici dintr-un total de 72 000 de pacienți (8).

Aspectul oftalmoscopic este caracteristic : vasele retiniene care se disting cu greu, de culoare alb, lăptoasă pe un fond retinian gălbui. Temporar, acuitatea vizuală se reduce. Fenomenele încep la periferia retinei, avînd caracter centripet. Poate fi prezentă cheratita lipoidică interstiţială, produsă de precipitarea lipidelor în cornee, a cărei temperatură este scăzută (Appelmans, citat de 8).

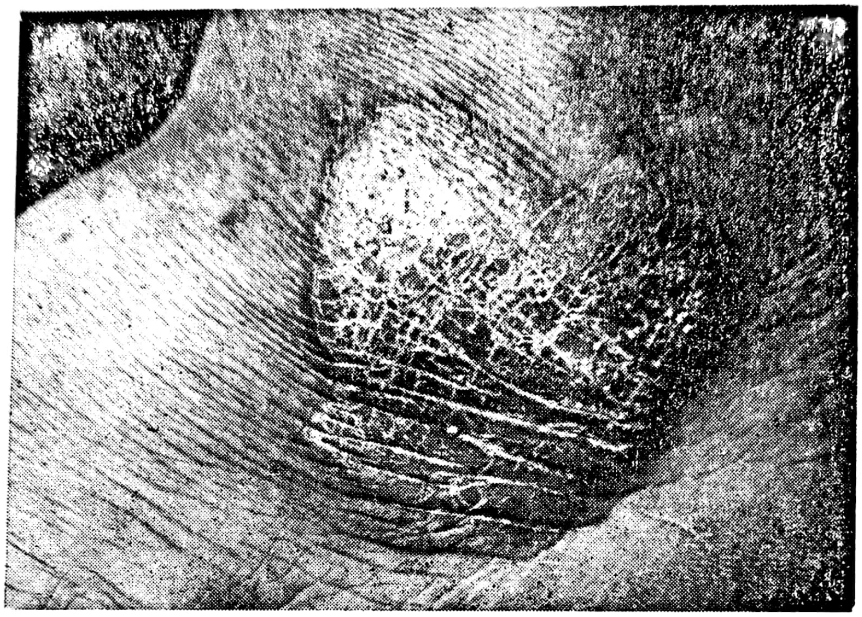


Fig. VI.16. — Necrobioză lipoidică la o bolnavă cu diagnosticul de diabet zaharat tip juvenil şi HLP tip II B.

În mecanismul de producere al acestei complicaţii s-a invocat, aşa cum era şi firesc, creşterea exagerată a lipidelor serice în cadrul dezechilibrării diabetului zaharat, consecutiv deficitului insulinic (8, 9). Este vorba în special de hiperchilomicronemie sau hiper-VLDL, corespunzătoare HLP tip I, IV sau V. Administrarea de insulină corectează aceste fenomene (8).

Durerile abdominale. Durerile abdominale legate de HLP au aceleaşi cauze şi semnificaţie ca în HLP familiale. În diabetul zaharat sînt notate totuşi cu o frecvenţă mai rară, dar atunci cînd sînt prezente pot crea dificultăţi de diagnostic. Alteori apar în cadrul diabetului asociat cu HLP tip III.

Hepatomegalia. Hepatomegalia ca martoră a steatozei hepatice este notată cu o frecvenţă de 17% în diabetul zaharat de tip juvenil şi 63% în diabetul zaharat de tip adult (11).

Manifestările clinice ale angiopatiei diabetice. Relaţia hiperlipoproteinemiei cu angiopatia diabetică va fi detaliată în capitolul VIII şi în volumul II. Amintim încă de pe acum faptul că, în special pentru macroangiopatie, hiperlipoproteinemia este un

factor de risc cert. Iată de ce în eventualitatea cardiopatiei ischemice, arteriopatiei periferice, sau afectărilor cerebro-vasculare din diabetul zaharat, investigarea spectrului lipoproteinic seric este obligatorie.

Examenul clinic al unui diabet cu hiperlipoproteinemie nu trebuie să omită posibilitatea asocierii altor factori hiperlipidemianţi : alcoolismul, *stress*-ul psihic, greşelile alimentare şi terapeutice sau a existenţei unor boli hiperlipidemiante (hipotiroidismul, insuficienţa renală sau pancreatică exogenă). Se vor lua în considerare tulburările hormonale în special la femeie.

În sfîrşit, obezitatea „per se" este o boală hiperlipidemiantă. Asociată diabetului, riscul hiperlipidemiant creşte considerabil (12).

Este interesantă distribuţia centripetă a ţesutului adipos în special la diabetice (13), explicată prin perturbările hormonale care, la rîndul lor, se invocă în apariţia HLP.

C. TABLOUL BIOCHIMIC

a. *Lipidele şi lipoproteinele serice.* În diabetul zaharat, s-au evidenţiat toate cele 6 tipuri de HLP (2, 4, 11, 14—26). Se remarcă creşterea frecvenţei HLP de la 33,12%, cifră care corespunde diabetului zaharat nou depistat, la 61% valoare întîlnită în grupul diabeticilor cu o vechime a bolii de 5—10 ani (tabelul VI.12). În ambele circumstanţe, HLP tip IV este dominantă.

În tabelul VI.16, 17, 18 redăm spectrul lipidic şi lipoproteinic plasmatic în diabetul zaharat în funcţie de vîrstă, pondere, vechimea şi forma clinică a bolii şi tratamentul urmat.

Prevalenţa diferitelor tipuri de HLP în diabetul zaharat dezechilibrat, cu sau fără cetoacidoză, şi în coma diabetică acidocetozică, este redată în tabelul VI.19.

Am detaliat iconografic aceste aspecte, pentru a ilustra variaţia tipurilor de HLP şi a lipidelor serice sub influenţa parametrilor respectivi. În interpretarea HLP în diabetul zaharat trebuie să ne raportăm în permanenţă la aceştia. Este posibil ca polimorfismul calitativ şi uneori cantitativ pe care îl remarcăm la datele din literatură, referitoare la acest subiect, să fie explicat tocmai prin nerespectarea acestui deziderat.

Diferenţierea HLP secundare de formele primare întîlnite în diabet zaharat este uneori dificilă. Criteriul propus de Miss, Jahnke şi Gries (6a) nu este întotdeauna valabil. Un interesant punct de vedere asupra acestei probleme emite Roskin şi Siperstein. Ei consideră că în diabetul zaharat genetic cu HLP este prezentă constant microangiopatia spre deosebire de HLP primare, familiale sau nonfamiliale unde microangiopatia lipseşte. Deoarece studiile lui Feldman şi colab. (183) demonstrează existenţa microangiopatiei şi în HLP primare însoţite de scăderea toleranţei la glucide, considerăm că acest criteriu nu este deosebit de util în diferenţierea etiologică a HLP.

b. *Modificări corelative cu HLP în diabetul zaharat.*

— *Activitatea LPL* (studiată global) este scăzută în diabetul zaharat (36,39). Fenomenul este mai pregnant în diabetul zaharat dezechilibrat

Tabelul VI.16

Spectrul lipidic şi lipoproteinic plasmatic la un grup de diabetici cu HLP tip II/A. Variaţia în funcţie de vîrstă, pondere, vechimea diabetului, tipul diabetului şi tratamentul efectuat

Parametrii clinici		Sex		Colesterol mg %				Trigliceride mg %	AGL μEq/l1	P
		B	F	Plasmatic	VLDL	LDL	HDL			
Vîrsta (ani)	29	5	9	376±13	21±3,2	301±11	42±6,9	136±5,1	766±13	—
	30—49	12	17	351±16	22±5,0	292±12	35±5,7	144±4,5	732±19	—
	50	2	7	369±19	24±7,2	297±13	39±4,1	154±60	791±17	—
Situaţie ponderală	NP	4	8	312±10	10±2,9	266±8,8	34±3,7	134±4,5	676±47	—
	SP	9	18	303±4,3	12±2,4	257±13	31±3,4	145±6,3	601±13	—
	OB	6	7	396±25	23±2,9	312±14	44±4,8	149±7,4	786±11	P < 0,01
Vechime diabet	ND	2	4	309±8,1	11±3,3	265±7,3	32±4,9	146±6,2	716±22	—
	1—4 ani	5	6	343±17	23±3,1	279±16	37±3,5	131±5,5	628±19	—
	5—9 ani	4	7	392±19	25±5,7	308±12	42±3,6	162±7,3	780±28	p < 0,02
	10 ani	8	16	369±17	26±9,1	293±11	38±5,2	142±7,3	753±16	—
Tip diabet	Juvenil	8	16	353±14	20±2,6	290±15	37±3,9	135±9,1	765±17	—
	Tip adult	11	17	398±23	21±5,0	315±16	45±4,9	142±6,3	782±33	P < 0,02
Tipul de tratament	Regim	2	2	305±16	16±3,1	249±12	34±5,2	128±10	749±13	—
	Sulfamide	4	6	355±21	24±5,9	288±18	41±4,7	140±4,7	753±39	—
	Biguanide	2	3	385±20	24±5,3	311±12	43±5,8	153±6,4	773±18	P < 0,02
	Insulină	11	22	301±14	13±2,2	256±8,8	32±3,9	133±7,7	703±15	—
	Sulfamide + biguanide	—	—	393±18	21±3,3	315±13	46±5,5	159±3,9	803±28	P < 0,01

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul VI.17

Spectrul lipidic şi lipoproteinic plasmatic la un grup de diabetici cu HLP tip II B. Variaţia în funcţie de vîrstă, pondere, vechimea diabetului, tipul diabetului şi tratamentul efectuat

Parametrii clinici		Sex		Colesterol mg %				Trigliceride mg %	AGL μ Eql	P
		B	F	plasmatic	VLDL	LDL	HDL			
Vîrsta (ani)	29	3	7	306±11	30±2,2	241±7,4	31±3,4	296±14	713±33	—
	30—49	4	4	310±12	30±2,4	252±9,3	24±1,3	307±16	732±17	—
	50	2	2	316±9,1	32±3,6	259±11	23±3,7	305±11	751±39	—
Situaţie ponderală	NP	1	1	292±13	26±1,5	247±16	19±3,5	273±24	659±11	cazuri în număr mic
	SP	6	9	283±18	26±0,9	237±7,4	18±3,2	277±19	652±28	—
	OB	2	3	323±21	35±10	263±12	24±5,7	313±9,4	791±43	$p < 0{,}001$
Vechime diabet	ND	2	1	303±14	29±4,3	240±7,0	28±5,0	295±10	722±11	cazuri în număr mic
	1—4 ani	2	3	323±11	35±13	262±12	23±5,2	334±23	740±36	—
	5—9 ani	3	4	297±12	27±3,5	249±16	22±5,2	301±18	702±22	—
	10 ani	2	5	315±14	30±9,3	255±13	26±6,2	298±13	698±36	—
Tip diabet	Juvenil de tip	4	9	295±10	23±4,2	251±9,9	24±5,9	290±19	704±38	—
	adult	5	4	330±22	37±11	265±14	23±3,4	315±16	782±29	$p < 0{,}01$
Tipul de tratament al diabetului	Regim	1	—	306	30	241	31	296	675	1 caz
	Sulfamide	2	2	302±13	27±3,2	241±10	27±4,2	288±10	724±16	—
	Biguanide	—	1	295	26	249	18	300	715	1 caz
	Insulină	6	9	286±11	22±4,4	243±15	20±2,3	292±13	682±17	—
	Sulfamide + Biguanide	—	1	320	34	266	17	308	750	1 caz

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul VI.18

Spectrul lipidic şi lipoproteinic plasmatic la un grup de diabetici cu HLP tip IV. Variaţia în funcţie de vîrstă, pondere, vechimea diabetului, tipul diabetului şi tratamentul efectuat

Parametrii clinici		Sex		Colesterol mg%				Trigliceride mg %	AGL µEql	P
		B	F	Plasmatic	VLDL	LDL	HDL			
Vîrsta (ani)	⟶29	—	1	254	207	18	26	396	675	1 caz
	30—49	3	1	263±16	219±13	21±2,2	22±4,5	427±37	752±36	—
	50⟶	3	—	277±14	220±11	23±6,0	31±3,3	483±41	790±43	—
Situaţie ponderală	NP	1	—	247	203	19	18	390	725	1 caz
	SP	2	1	255±18	201±8,3	20±4,3	32±6,3	415±21	693±13	—
	OB	3	1	281±21	225±12	26±7,2	29±5,2	475±30	772±15	$p < 0,05$
Vechime diabet	ND	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	1—4 ani	—	1	254	207	18	26	396	675	1 caz
	5—9 ani	4	1	272±15	217±9,2	21±6,2	30±5,2	455±18	783±37	—
	10 ani	2	—	265±13	215±8,0	23±4,0	24±5,5	436±22	740±19	—
Tip diabet	Juvenil	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Tip adult	6	2	267±14	214±11	23±5,5	26±6,0	449±31	753±38	—
Tipul de tratament al diabetului	Regim	2	—	258±13	206±10	21±4,5	30±4,0	419±26	703±15	—
	Sulfamide	3	1	264±14	217±11	22±4,2	23±5,2	429±27	755±32	—
	Biguanide	1	1	278±15	221±15	22±5,0	32±4,5	469±33	778±24	—
	Insulină	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Sulfamide + Biguanide	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul VI.19

Prevalența diferitelor tipuri de hiperlipoproteinemie în diabetul zaharat dezechilibrat și în coma diabetică acidocetozică

Forma clinică	Tipurile de hiperlipoproteinemie						Total HLP
	I	II-a	II b	III	IV	V	
Diabet dezechilibrat fără acidocetoză 100 bolnavi	—	13	18	3	44	2	80
Diabet dezechilibrat cu acidocetoză 100 bolnavi	—	10	20	6	54	4	94
Comă diabetică acidacetozică 30 bolnavi	6	2	4	1	10	7	30

cu HLP tip I (9), dar unde tratamentul cu insulină normalizează tabloul biochimic și enzimatic (9). Scăderi ale activității LPL s-au evidențiat și în diabetul zaharat echilibrat, juvenil sau de maturitate, cu sau fără hipertrigliceridemie (36,37), (tabelul VI.20, 21), figura VI.17, 18.

— *Hiperuricemia* apare în special în HLP tip IV și II b în diabetul zaharat echilibrat (juvenil sau de maturitate) în comparație cu martori nediabetici, diabetici normolipemici sau cu HLP tip II a. Concomitent, se relevă variația concordantă a uricemiei și triglicerideminei în HLP tip IV (tabelul VI.22), (40).

Tabelul VI.20

Variația activității LPL în diabetul zaharat, în funcție de valorile TG serice A: grup martor, B: diabetici normotrigliceridemici, C: diabetici hipertrigliceridemici (după Gligore, Hâncu, Ureche — 37)

Grupul	A	B	C	Semnificația statistică
Număr cazuri (56)	12	12	32	
Trigliceride serice (mg %)	$\bar{X}$: 148 ES ± 23	155 21	216 27	
Activitatea LPL (μEq/ml/min)	$\bar{X}$: 0,150 ES ± 0,008	0,109 0,015	0,094 0,018	A față de B $p < 0,001$ A față de C $p < 0,001$ A față de C $p < 0,01$

— *Hipomagneziemia* este mai marcată în diabetul zaharat cu HLP tip IV și II b (tabelul VI.9, 23, 24). În unele din aceste cazuri se remarcă o corelație între variația magneziului seric cu colesterolemia și triglicerideminia.

— *Creșterea activității pseudocolinesterazei serice* este demonstrată în diabetul zaharat comparativ cu martorii (42). În HLP tip IV, II și III, valorile ei sînt mai crescute comparativ cu diabeticii normolipemici (4, 14).

— *Funcțiile trombocitare* (Dutu și colab.) (43) în diabetul zaharat echilibrat cu hipertrigliceridemie arată variația concordantă a trigliceridelor cu adezivitate plachetară și indicele E_{mx} (trombelastogramă), cît și a AGL cu indicele E_{mx}.

Tabelul VI.21

Variația activității LPL în diabetul zaharat de tip adult (C), diabetul zaharat de tip juvenil (B) și martorii (A) (după Gligore, Hâncu, Ureche – 36)

Grup		A	B]	C	Semnificație statistică (p)
Nr. cazuri		12	8	16	
Activitatea LPL serică (μEq/ml/min)	$\bar{x}$	0,150	0,107	0,103	A față de B $p < 0,001$
	ES ±	0,0075	±0,015	±0,013	A față de C $p < 0,001$
					B față de C $p > 0,05$
Trigliceridemie	$\bar{x}$	147	187,7	168,4	

Notă; $\bar{x}$ Media; ES ±, eroarea standard.

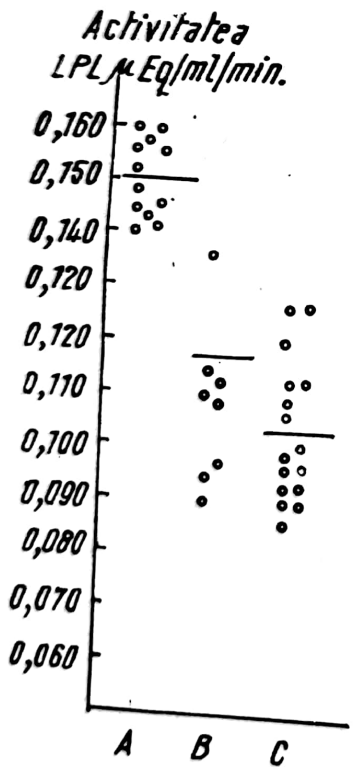


Fig. VI.17. — Activitatea LPL la martor (A), diabetici de tip adult (B) și diabetici tip juvenil (C) (după Gligore, Hâncu, Ureche, 36).

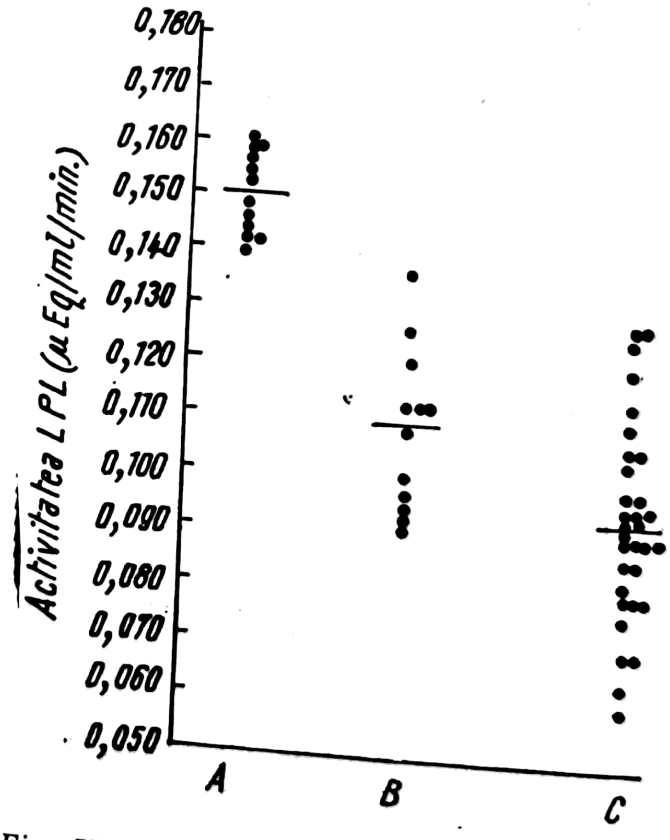


Fig. VI.18. — Activitatea lipolitică a plasmei recoltate la 14 minute de la injectarea a 15 U.I. heparină/kilocorp la martori (A), diabetici normotrigliceridemiei (B) și diabetici hipertrigliceridemici (C) dispersia valorilor (după Gligore, Hâncu, Ureche, 37).

Tabelul VI.22

Variația uricemiei, colesterolului seric total (C), trigliceridelor serice (Tg) în cele 4 grupuri de diabetici diferențiate după criteriile lui Fredrickson (HLP = hiperlipoproteinemie; LP = lipoproteinemie). În partea dreaptă a tabelului este redată compararea valorilor uricemiei între cele 4 grupuri (după Duțu, Hâncu, Hoinărescu – 40)

Spectrul lipoproteinic	Nr. cazuri	Urecemia mg %	C mg %	TG mg %	Testul Student în cazul comparat. uricemiei – p –
HLP tip II a	22	2,42±0,3	287±31	149±19	p < 0,01
HLP tip II b	29	3,9±0,12	272±29	217±21	p > 0,05
HLP tip IV	31	4,22±0,10	202±37	239±24	p <0,01
Normo-LP	128	2,34±0,22	186±24	152±23	p>0,05

Tabelul VI.23

Variația magneziului seric în diabetul zaharat cu HLP (după Boeriu Hâncu și colab. – 41)

Parametrii investigați	Grup M. martori 0 subiecți	Sub grupa A tip L.P. normal 34 pacienți	Subgrup B HLP tip II A 6 pacienți	Subgrup C HLP tip II B 13 pacienți	Subgrup D HLP tip III 4 pacienți	Subgrup E HLP tip IV 16 pacienți
Colesterol seric total (mg%) × E S Z	175 ±2	177±6,7	253±13	282±13	231±10	201±12
Trigliceride serice (mg %) × E S Z	116±4,5	120±11	152±38	184±19	237±48	390±57
Magneziu seric (mg %) × E S Z	2,34± 0,05	2,17± 0,08	2,15± 0,11	250±19 1,92± 0,11	1,86± 0,23	1,67± 0,1

Compararea grupurilor	Semnificație statistică indicele – p –	Compararea grupurilor	Semnificația statistică indicele – p –
M–A	P > 0,05	A – (B + C)	P > 0,05
M–B	P > 0,05	A – E	P < 0,01
M – C	P < 0,01	A – (13 + C+E)	P < 0,01
M – E	P < 0,01	B – C	P > 0,05
M (A+B+C+ E)	P < 0,01	B – E	P < 0,01
M (B – C)	P < 0,01	C – E	P > 0,05
A – B	P > 0,05	(B + C) – E	P < 0,05
A – C	P > 0,05		

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul VI.24

Variaţia corelativă a magneziului seric cu colesterolul şi TG în diabetul zaharat cu HLP tip II A, B sau a tuturor cazurilor de HLP din diabetul zaharat (după Boeriu, Hâncu şi colab. 41)

Tipul H C P	Corelaţia între	Coeficient de corelare „r"	Indicele – P –
II a	Colesterol magneziu	−0,453	$p > 0,05$ (N)
II b	Colesterol-magneziu	0,814	$p < 0,01$ (S)
	Trigliceride-magneziu	0,818	$p < 0,01$ (S)
III	Trigliceride-magneziu	0,624	$p > 0,05$ (N)
IV	Colesterol-magneziu	0,298	$p > 0,05$ (N)
	Trigliceride-magneziu	0,197	$p > 0,05$ (N)
II b + III + IV	Trigliceride-magneziu	0,399	$p < 0,05$ (S)

VI.9.3. HIPERLIPOPROTEINEMIA DIN PATOALIMENTAŢIA EXCEDENTARĂ ŞI OBEZITATE

Detalii asupra acestor forme etiologice de HLP primare vor fi redate într-un capitol aparte. Menţionăm totuşi că deşi prevalenţa acestui grup este foarte ridicată, HL şi HLP (apreciată cantitativ) nu este aşa de marcată ca în HLP familiale. Din acest punct de vedere, se aseamănă cu HLP din diabetul zaharat.

VI.9.4. PATOLOGIE BIOCHIMICĂ ŞI FIZIOPATOLOGIE INTERRELAŢII PATOGENETICE

Filiaţia patogenetică dintre hiperlipoproteinemie-obezitate-diabet zaharat-ateroscleroză este redată în figura VI.19. Patoalimentaţia excedentară (hipercalorismul global, excesul de zaharuri rafinate, lipide saturate sau alcool) la care se adaugă sedentarismul şi *stress*-ul psihic, induc apariţia obezităţii, care, la rîndul ei, pe un fond genetic determinat, precipită fie determinismul HL-HLP, fie cel al diabetului zaharat (sau scăderii toleranţei la hidraţi de carbon). Notăm posibilitatea influenţei reciproce HLP-diabet zaharat, inducerea fiind mai mult în sensul diabet zaharat → HLP. HLP şi diabetul zaharat pot fi influenţate şi direct de către patoalimentaţia excedentară, HLP şi diabetul zaharat, la care se asociază obezitatea şi excesul alimentar, determină în ultimă

instanță apariția aterosclerozei. Este posibilă existența unui fond genetic comun pentru aceste boli.

În cadrul acestui concept, HL—HLP ne apare ca un element de legătură între patoalimentația excedentară, obezitate, diabet zaharat, pe de o parte și ateroscleroză pe de altă parte. Uneori HLP este validată pe plan clinic, alteori este numai o anomalie biochimică, dar cu certitudine, HL—HLP reprezintă un „modus operandi" în aterogeneză.

Pentru o mai bună înțelegere, datele de patologie biochimică le vom sistematiza astfel :

A. Mecanisme hiperlipoproteinemiante în patoalimentația excedentară și obezitate.

B. Mecanisme hiperlipoproteinemiante în diabetul zaharat.

C. Privire patogenetică integrativă asupra obezității, diabetului zaharat și HLP.

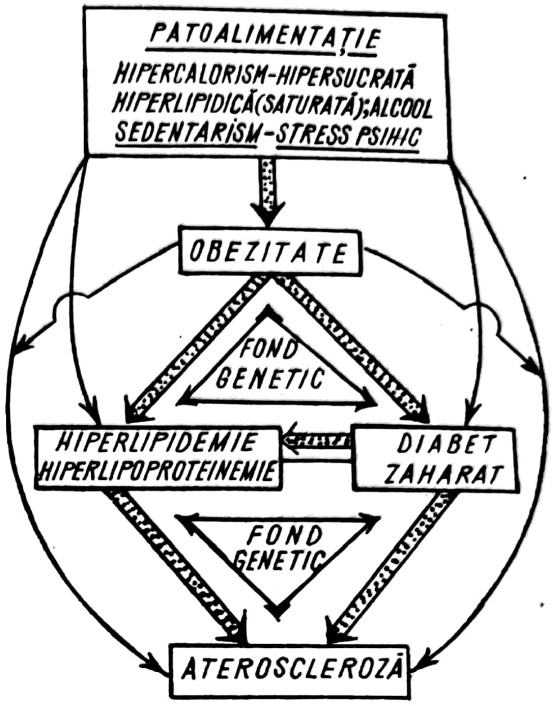


Fig. VI.19. — **Filiația patogenetică : patoalimentație — obezitate-hiperlipidemie-hiperlipoproteinemie-diabet zaharat (sau scăderea toleranței la glucide) ateroscleroză ; rolul fondului genetic.**

A. MECANISME HIPERLIPOPROTEINEMIANTE ÎN PATOALIMENTAȚIA EXCEDENTARĂ ȘI OBEZITATE

Patoalimentația excedentară, cu variantele ei cunoscute (hipercalorismul global, exces de zaharuri rafinate, exces de lipide saturate) se însoțește, cel puțin după un anumit interval de timp de la aplicarea ei, de exces ponderal, care ajunge la obezitate. Aceasta este de fapt faza dinamică a obezității căreia îi poate urma faza statică. Vom analiza mecanismele hiperlipoproteinemiante în patoalimentația excedentară și obezitate, astfel :

— alimentație normocalorică, dar excesivă în glucide ;
— alimentație normocalorică, dar excesivă în lipide saturate ;
— alimentație hipercalorică ;
— obezitate constituită.

ALIMENTAȚIE NORMOCALORICĂ, EXCESIVĂ ÎN GLUCIDE

Pentru a înțelege mai bine mecanismele hiperlipoproteinemiante în cazul alimentației excesive cu glucide, vom analiza :

— modificările metabolismului lipidic în cazul realimentării cu glucoză după o perioadă de inaniție ;

— modificările metabolismului lipidic în cazul excesului alimentar de zaharuri rafinate (glucoză și fructoză) ;

— modificările metabolismului lipidic în cazul excesului alimentar de amidon.

a. *Modificările metabolismului lipidic în cazul realimentării cu glucoză după o perioadă de inaniție.* În cazul alimentației cu glucoză a unui organism aflat în inaniție de cîteva zile, se produc modificări în metabolismul lipidic superpozabile celor din faza anabolică a funcției generale metabolice (51). Pe cale parasimpatică și enteroinsulară se declanșează secreția de insulină la care contribuie apoi și creșterea glicemiei. Aceste două elemente, hiperinsulinismul și aportul de glucoză modifică radical liniile metabolismului lipidic :

— crește gliceridogeneza și se reduce mult lipoliza de la nivelul țesutului adipos (activitatea LPL crește în timp ce activitatea trigliceridolipazei scade). Adipocitele fiind acum de volum redus sînt foarte sensibile la acțiunea insulinei ;

— asigură aportul energetic, predominant glucozic pentru mușchi ;

— reactivează biosinteza acizilor grași în ficat ; martorul acestui fenomen este creșterea activității acetil-CoA-carboxilazei, enzimei de clivaj a citratului, acetat tiochinazei și a enzimelor generatoare de NADPH (51) ;

— oxidarea acizilor grași este redusă ;

— cetogeneza este aproape suprimată ;

— gliceridogeneza hepatică este mult amplificată, în special grație augmentării activității glicerin-IP-acil-Coa-transferazei (52) ;

— lipoproteinosinteza crește încît asistăm la hiper VLDL și hiper LDL în plasmă. Deoarece în acest timp activitatea LPL este exacerbată turnoverul acestor lipoproteine este acum foarte exagerat.

b. *Excesul alimentar de zaharuri rafinate.* Începînd cu anul 1957, de cînd Yudkin a demonstrat creșterea frecvenței cardiopatiei ischemice, corelativ cu dieta hiperzaharată (53), studiile asupra relației zaharuri rafinate alimentare — lipide — ateroscleroză s-au extins în mod impresionant. Ahrens în anul 1961 (54), definește hiperlipidemia carbohidrat indusă, la conturarea căreia aduce contribuții cîțiva ani mai tîrziu și Kuó (55, 56). În ultimii ani, prin studiile asupra obezității experimentale la om, prin alimentație hiperzaharată (57), se aduc precizări asupra mecanismelor hormonale și enzimatice care intervin în producerea HLP (57). Deși încă nu dispunem de explicații satisfăcătoare în multe din aspectele hiperlipidemiei induse de glucide la om, încercăm o sinteză a datelor din literatură.

Principala formă de aport alimentar al zaharurilor rafinate este zaharoza (sucroză = zaharoză = glucoză + fructoză) glucoza sau fructoza. Consumul lor a crescut impresionant în ultimele decenii. În 1964, în U.S.A. se raportează un consum de 200 g zaharoză/zi pe cap de locuitor (58). În Franța, producția anuală de zahăr a crescut de la 4 000 tone cît era la începutul secolului al XIX, la 2 377 000 tone în 1963. Efectele consumului crescut de zaharuri asupra metabolismului lipidic și lipoproteinic, la om, variază în funcție de : timpul consumului, (efectele acute

subacute şi cronice) de celelalte principii alimentare (lipide şi proteine), de ritmul de administrare. Reacţia metabolică este diferită la normo- sau hiperlipoproteinemici, depinzînd şi de tipul glucidului (glucoză, fructoză sau zaharoză).

Efectele *acute* ale ingestiei de zaharoză asupra lipidelor serice se caracterizează prin : scăderea AGL, colesterolului, triglicеridelor (59), fenomen explicat prin creşterea insulinei, care prin activarea LPL amplifică *clearence*-ul TG-VLDL.

Efectele *subacute*, raportate la ingerarea de zaharoză timp de aproximativ 30 de zile, se caracterizează prin creşterea trigliceridemiei, în timp ce colesterolemia nu este afectată (59,60). Substituţia (izocalorică) a zaharozei cu amidon, determină reducerea triglicеridelor serice.

Efectele *cronice* după ingerarea de zaharoză în proporţie de 40—50% dintr-o hrană zilnică izocalorică, timp de mai multe luni, se însoţeşte de hipertrigliceridemie (59).

În toate aceste cazuri a fost vorbade subiecţi care iniţial erau normotrigliceridemici. Se remarcă (59) un efect hipertrigliceridemiant mai pronunţat la bărbaţii tineri faţă de femeile care au aceeaşi vîrstă. De asemenea, se constată dependenţa trigliceridemiei de ritmul zilnic al administrării de zaharoză. Se consideră că administrarea în priză unică a zaharozei se însoţeşte de creşterea mai rapidă a triglicеridelor, comparativ cu administrarea aceleiaşi cantităţi în prize fracţionate (62). Efecte sinergice hipertrigliceridemiante se constată în cazul unei diete hiperzaharate bogată în grăsimi saturate animale (63). Acelaşi efect sinergic este demonstrat şi în cazul aminoacizilor de proveniență alimentară (Mac Donald, citate de 59).

La subiecţi sănătoşi, administrarea de glucoză nu produce hipertrigliceridemie (66) în timp ce, după administrarea de fructoză sau zaharoză, acest efect apare evident (65).

Fredrickson şi Lees (66) produc hipertrigliceridemie la subiecţi normali, numai după administrarea unor cantităţi mari de zaharoză, în timp ce Kuó (56) nu reuşeşte să demonstreze acest efect. Totuşi, la 2 pacienţi cu hipercolesterolemie familială se induce hipertrigliceridemie printr-o dietă hiperzaharată izocalorică (55).

La pacienţii cu HLP familială tip II B, III, IV, şi V (67), efectul hipertrigliceridemiant al zaharozei se obţine în cazul ingerării unor cantităţi mult mai mici, comparativ cu subiecţii normotrigliceridemici (59, 64, 65). Efectul hipertrigliceridemiant al fructozei sau al zaharozei, comparativ cu glucoza, este mai pregnant la pacienţii cu hipertrigliceridemie (65).

Dieta hiperzaharată afectează însă şi acizii graşi sanguini sau tisulari. În figura VI.20 este redată modificarea spectrului acizilor graşi şi tisulari sub influenţa dietei hiperzaharate (creşte sinteza endogenă de acid palmitic, palmitoleic şi oleic). Modificări similare au loc şi în acizii graşi din trigliceride, colesterol şi fosfolipide (55).

c. *Rolul amidonului alimentar.* Amidonul nu are un efect hipertrigliceridemiant (55, 56). Mai mult, substituţia izocalorică a

zaharozei prin amidon în alimentația unui subiect la care a fost indusă hipertrigliceridemia prin zaharoză, a produs scăderea trigliceridemiei (fig. VI.21).

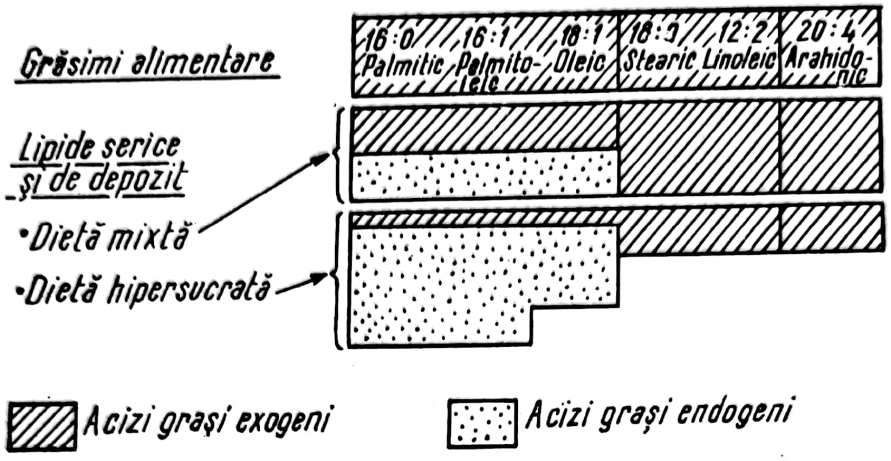


Fig. VI.20. — Influența AG plasmatici și tisulari de către o dietă mixtă sau hiperglucidică (după Kuo, 55). Se remarcă creșterea lipogenezei (a acizilor grași endogeni) după alimentația hiperglucidică.

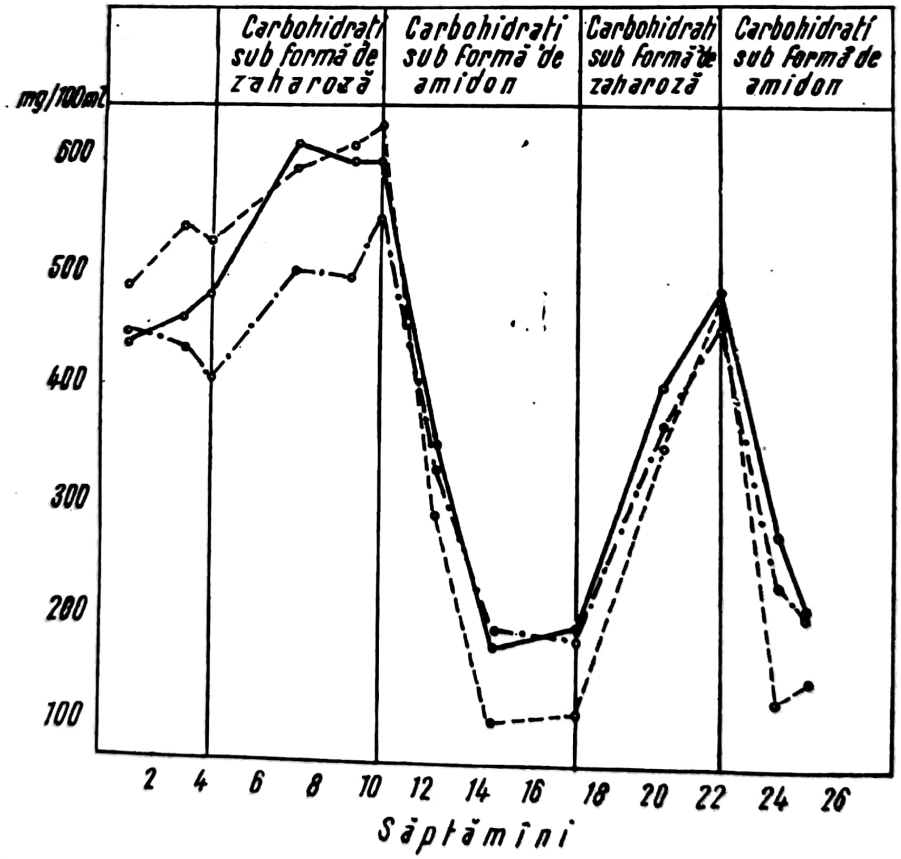


Fig. VI.21. — Efectele unei diete isocalorice asupra colesterolului seric total (TC), trigliceridelor serice (TG) și fosfolipidelor (PL). Substituția izocalorică se efectuează prin sucroză sau amidon. Studiul se referă la o femeie de 50 de ani, cu diagnosticul de infarct miocardic și angină pectorală (după Kuo, 55).

Scanned with OKEN Scanner

d. *Mecanisme hiperlipoproteinemiante induse de dieta hiperzaharată.* În figura VI.22 este reprodus mecanismul general de inducere a hipertrigliceridemiei (HLP II B, III, IV) prin dietă izocalorică, bogată în zaharuri rafinate. După un aport excesiv de zaharuri rafinate, la un subiect cu o toleranță carbohidrată normală, are

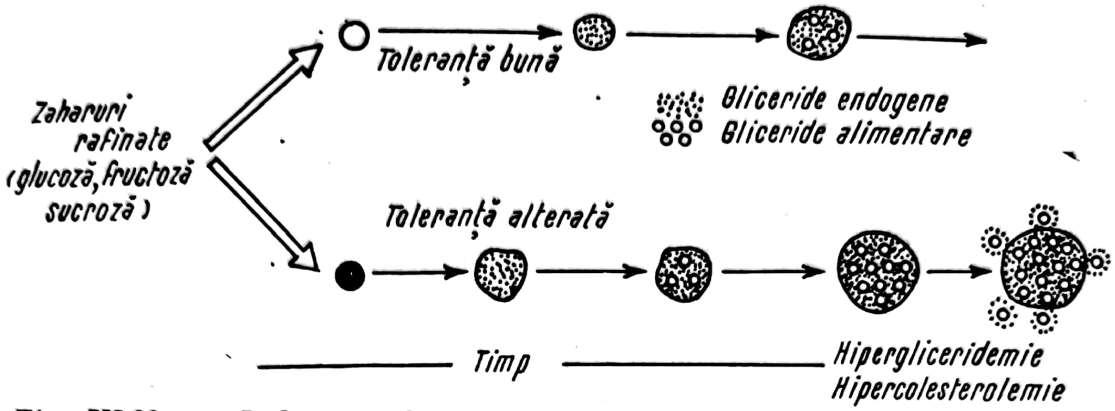


Fig. VI.22. — Inducerea hiperlipidemiei printr-o dietă rizocalorică bogată în zaharuri rafinate (după Kuo — 55).

loc creșterea sintezei trigliceridelor endogene și creșterea lentă a *pool*-ului trigliceridic. În cazul unui subiect a cărui toleranță glucidică este alterată, sinteza trigliceridelor și expansionarea *pool*-ului triglicerid este foarte rapidă, consecința fiind hipertrigliceridemia în special și hipercolesterolemia în subsidiar (55).

În realitate, fenomenele sînt mult mai complexe, pentru explicarea lor fiind necesară studierea modificărilor hormonale produse de alimentația glucidică, a modificărilor metabolismului lipidic și lipoproteinic în țesutul adipos și ficat, a modificării cineticii lipidice și lipoproteinice.

Modificări hormonale produse de alimentația hiperglucidică. Se caracterizează prin hipersecreție de insulină și cortizon, scăderea secreției de glucagon și secreției de STH (57, 68). Aceste efecte sînt diferențiate din punct de vedere cantitativ în funcție de tipul glucidului ingerat (glucoză, fructoză sau zaharoză și durata administrării. Se crede că efectul insulino-stimulant este maxim în cazul administrării zaharozei, datorită potențării glucozei de către fructoză (69).

Dacă efectul acut al ingerării de zaharoză și glucoză asupra insulinosecreției este explicat, interpretarea efectului subacut și cronic este controversată. În această operațiune se pare că are loc modularea următorilor parametri (fig. VI.23). : ingestie glucidică (subacută și cronică) ⟶ ⟶ stimulare cronică beta-insulară ⟶ hiperinsulinism bazal și reactiv. Efectele sale sînt hipertrofia adipocitară, hipertrigliceridemia endogenă, apariția antagoniștilor insulinici periferici. Factorii care produc rezistența la insulină, alături de hipertrofia adipocitară sînt : hipercortizolemia, un factor muscular (70) sau alți factori necunoscuți. Aici ar putea fi invocat rolul lipoproteinelor ca transportori ai insulinei și modificarea acestei funcții în cazul HLP sau obezității avînd ca efect ineficiența insulinică.

Hipertrofia adipocitară și antagoniștii insulinici sînt, la rîndul lor, stimuli cronici pentru aparatul betainsular care, treptat, se hiperplaziază (72). Asupra acestei afirmații părerile nu sînt lipsite de echivoc. Apariția antagoniștilor insulinici se consideră a fi un fenomen de protecție periferică împotriva hiperinsulinismului (57). Conform concepției lui Mohler (72), în urma aportului excesiv de zaharuri rafinate, apare hiperplazia beta-insulară, hipersecreția concomitentă de insulină și de inhibitori insulinici. Aceștia vor „dirija" preferențial insulina de la mușchi spre adipocit. Hipertrofia masei adipocitare va fi în continuare un stimul cronic pentru celulele beta, accentuînd hiperplazia lor. În accepțiunea unei predispoziții genetice pentru diabetul zaharat, epuizarea acestora se va produce treptat, apărînd hiperglicemia. La aceasta se adaugă, în grade variate, antagonismul insulinic muscular și poate HLP, care apare între timp datorită acțiunii hiperinsulinismului la nivelul ficatului.

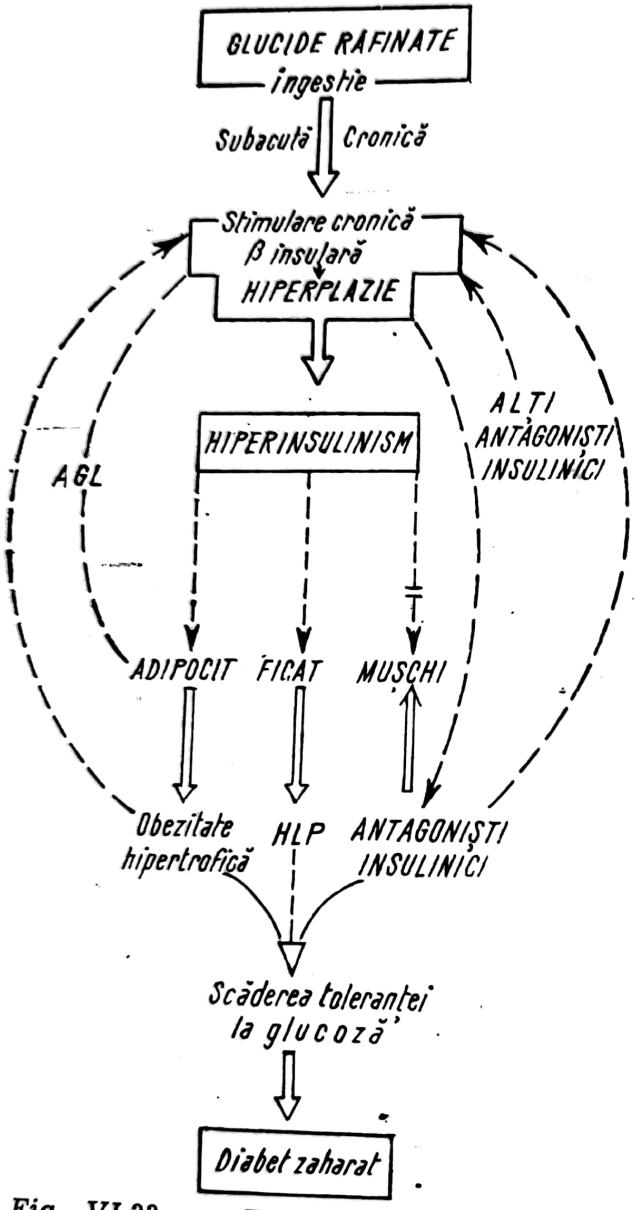


Fig. VI.23. — Rolul glucidelor rafinate în producerea hiperinsulinismului, obezității, hiperlipoproteinemiei și a diabetului zaharat.

Foarte recent, se demonstrează ameliorarea toleranței la glucide în eventualitatea reducerii ponderale a obezilor (190, 191). Efectul este pregnant la obezii tineri, în comparație cu cei peste 50 de ani, unde normalizarea toleranței la glucide nu se produce (190).

Pfeiffer (73) admite existența unei hipersensibilități a celulelor beta-insulare la glucoză (determinată genetic), concomitent cu tendința la rezistență insulinică.

În prezența acestui nou status hormonal și al aportului predominant de glucide rafinate, au loc următoarele modificări în organele de interes metabolic major :

Modificările metabolice în țesutul adipos (fig. VI.24). La acest nivel, activitatea maximă o are glucoza, care în prezența hiperinsulinismului este hipercaptată de adipocite unde vor asigura o mare disponibilitate de alfa-

glicerofosfat. Concomitent, activitatea LPL este exacerbată, avînd ca efect captarea trigliceridelor din VLDL şi chilomicroni. Activitatea sistemului lipolitic intraadipocitar este depresionată datorită insulinei, cît şi creşterii disponibilităţii de alfa-glicerofosfat. În consecinţă, lipoliza scade, sinteza gliceridelor creşte, *pool*-ul de depozitare expansionîndu-se creşte volumul adipocitar. Dacă la început, adipocitul mic avea o insulino-sen-

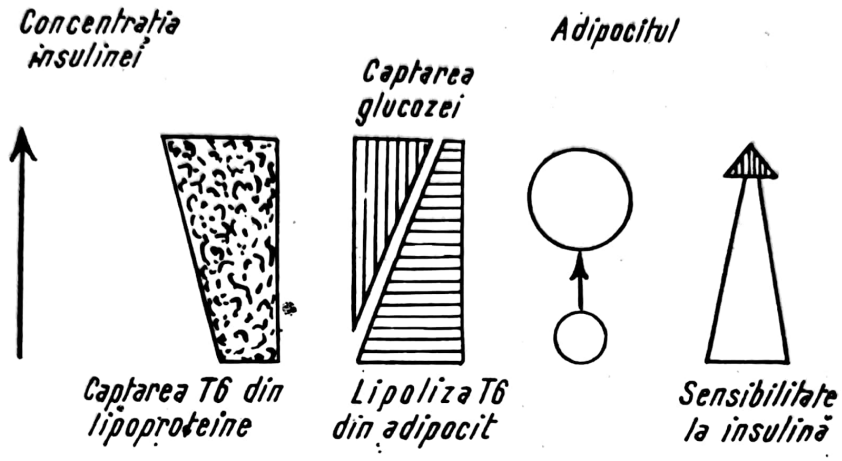


Fig. VI.24. — Efectele insulinei asupra adipocitului ; creşte captarea glucozei şi a TG din lipoproteine, scade lipoliza TG intra-adipocitare, consecinţa va fi creşterea *pool*-ului TG de rezervă în adipocit, al cărui volum va creşte (modificată după Steinke, 68).

sibilitate crescută, treptat, prin hipertrofie sensibilitatea la insulină se reduce, instalîndu-se în cele din urmă chiar rezistenţa insulinică. Sjostrõm (74) demonstrează la subiecţi normali, alimentaţi cu dietă normo-calorică hiperglucidică, creşterea intraadipocitară a biosintezei „de novo" a acizilor graşi. Fenomenul, deşi lipsit de importanţă cantitativă este destul de semnificativ deoarece demonstrează posibilitatea biosintezei „de novo" a acizilor graşi în adipocit. Evidenţierea activităţii ATP citrat-liazei (E.C.4.1.3.8) în adipocit, este martorul enzimo-molecular al acestei activităţi. Concomitent se dovedeşte creşterea activităţii enzimei şi, implicit, a biosintezei AG în funcţie de hipertrofia adipocitului, încît la subiecţii obezi fenomenul este maxim.

Aceste date contrazic rezultatele lui Shrago (74), care neagă existenţa acestei enzime şi a căii biosintetice în ţesutul adipos, atît în condiţii bazale, cît şi în alimentaţia hipercarbohidrată.

Deşi Sjostrőm (75) evidenţiază o corelaţie între biosinteza intraadipocitară a AG şi TG serice, se pare că această cale metabolică nu este implicată în geneza hipertrigliceridemiei. La un subiect cu HLP tip IV, producţia totală de AG—TG de către ficat este de 3 000 (μEq/h (76), iar producţia de lipoproteine este de 10—20 de ori mai mare decît aportul pe care l-ar aduce AG sintetizaţi într-o masă de ţesut adipos de 40 kg, în condiţii optime de biosinteză (74).

În cadrul aceluiaşi studiu, apare surprinzătoare lipsa hiperinsulinismului la pacienţii obezi (74). Aceasta s-ar putea explica probabil prin vechi-

mea obezității și vîrsta obezilor, deoarece Johansen (77), demonstrează la obezii vîrstnici nediabetici lipsa hiperinsulinismului după stimularea cu glucoză sau tolbutamid.

Pe măsură ce adipocitul se hipertrofiază și devine rezistent la insulină, lipoliza TG intraadipocitare crește, crescînd eliberarea de AGL (78). Acesta este un factor hiperlipoproteinemiant important care operează la nivelul hepatocitului.

Modificări metabolice în ficat. La nivelul ficatului, dintre glucideie alimentare fructoza are efectul lipogenetic maxim. În capitolul I.3., am arătat rolul acestei hexoze în sinteza intraadipocitară de acizi grași, în comparație cu glucoza. Diferența rezultă din faptul că fructoza este un donator mai important de acetil CoA (79). Concomitent se remarcă o captare hepatică mai pronunțată pentru fructoză în comparație cu glucoza, cît și creșterea glicerolfosfatului intraadipocitar consecutiv ingestiei de fructoză (64).

Efectul hipertrigliceridemiant și hiperlipoproteinemiant al fructozei la nivelul hepatocitului este maxim în prezența insulinei (Topping și Moyes) (80). De asemenea, s-a demonstrat la șobolani că insulina este necesară în inducerea prin alimentația carbohidrată a sintezei enzimelor lipogenetice intrahepatocitare (acetil-CoA-carboxilaza, sintetaza acizilor grași, enzima de clivaj a citratului, enzima malică, glucozo-6-fosfat-dehidrogenază și 6-fosfo-gluconat-dehidrogenaza) (80). Glucagonul inhibă acest efect (80). Adăugăm la acestea și creșterea activității glicero-fosfat-aciltransferazei în urma dietei hiperzaharate (52).

Grație acestor elemente ne putem explica hipersecreția hepatică de TG—VLDL (HLP tip IV) care apare la subiecți normali sau hipertrigliceridemici, consecutiv unei diete normocalorice, dar hiperglucidică (40—60% din totalul caloric) (fig. VI.25). Glucoza și fructoza (componente ale zaharozei), stimulează maxim secreția de insulină, prin potențarea reciprocă. În prezența hiperinsulinismului, glucoza se metabolizează preferențial în țesutul adipos, iar fructoza în ficat ceea ce duce la obezitate predominant hipertrofică și hiper-VLDL (HLP tip IV). Iată de ce o dietă bogată în glucoză, la subiecți normali nu reușește să inducă hipertrigliceridemia (64), în timp ce fructoza și, mai ales, zaharoza, în prezența insulinei, determină HLP atît la subiecți normali, cît mai ales la bolnavii cu hipertrigliceridemie (64, 65).

Schlierf emite ipoteza conform căreia la subiecți normali supuși dietei hiperglucidice, HLP apare consecutiv hiper AGL-miei nocturne ca urmare a dezinhibiției lipolizei de la nivelul țesutului adipos prin lipsa aportului glucidic. Ar fi un „rebound efect" al hiperalimentației diurne (128).

Modificările metabolice în intestin. Recent (80 a), se demonstrează participarea mucoasei intestinale la creșterea sintezei de TG—VLDL și colesterol în condițiile unei diete normocalorice hiperglucidice. Evitarea intestinului, prin administrarea intravenoasă a aceleiași compoziții alimentare, previne apariția hipertrigliceridemiei.

Modificări cinetice ale lipidelor și lipoproteinelor. Quarfordt și colab. (82) evidențiază la subiecți normali sau la bolnavi cu HLP tip IV,

supuşi unei diete hiperglucidice, accelerarea cineticii TG—VLDL (creşterea transportului net al AG—TG—VLDL).

În concluzie, hipertrigliceridemia (HLP tip IV), este anomalia cea mai frecventă care apare la subiecţi sănătoşi, sau se amplifică la pacienţi cu hipertrigliceridemie, în urma dietei normocalorice, dar hiperglucidică. Acest efect se explică prin creşterea sintezei hepatice de lipide şi lipoproteine şi nu prin scăderea *clearence*-ului lor periferic.

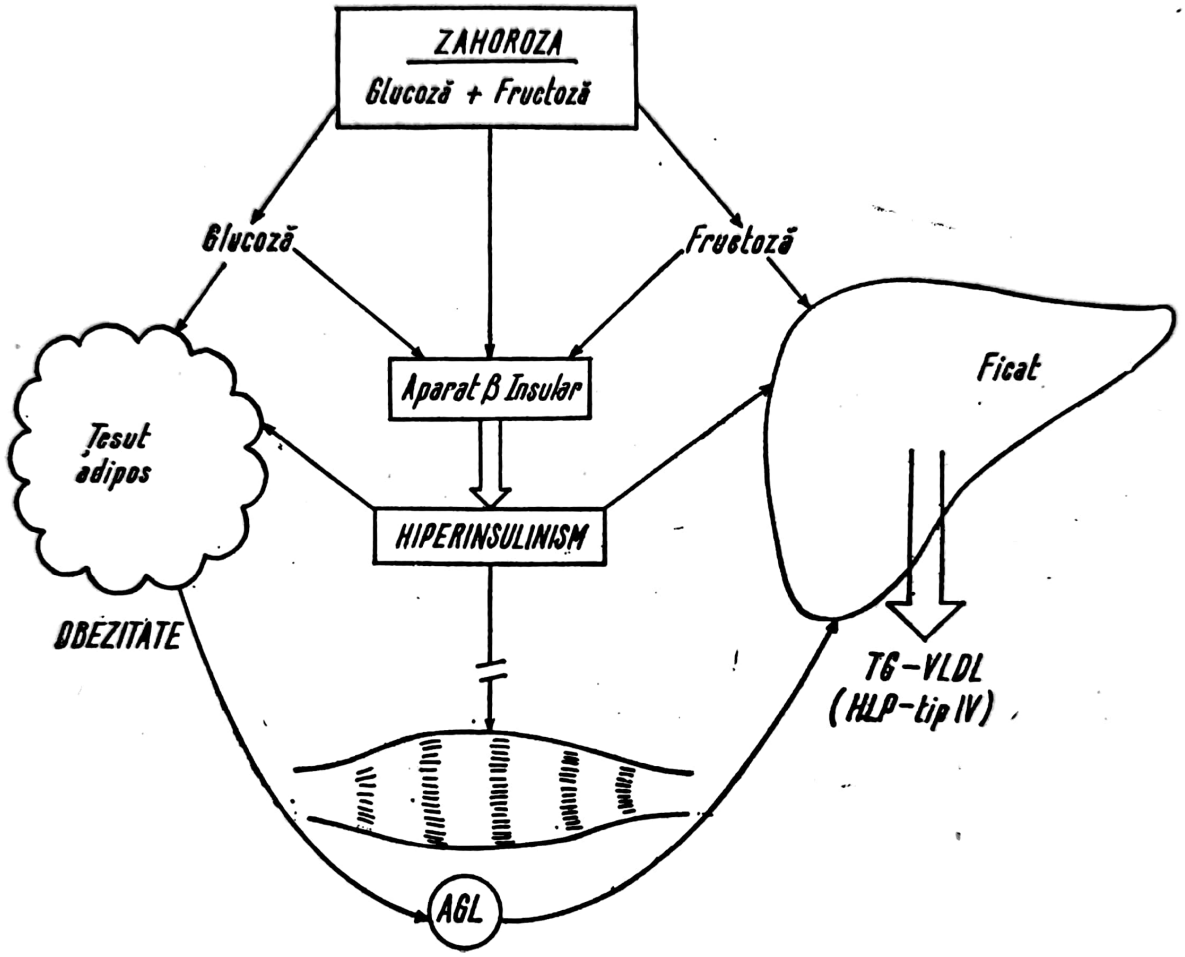


Fig. VI.25. — Schema acţiunii hipertrigliceridemiante a zaharozei.

ALIMENTAŢIA NORMOCALORICĂ, BOGATĂ ÎN LIPIDE NEUTRE SATURATE ŞI COLESTEROL

Efectul alimentaţiei normocalorice, dar bogată în lipide neutre saturate şi/sau colesterol asupra lipidemiei şi lipoproteinemiei a fost discutat în capitolul III.4.1. O parte din mecanismele intime de producere a HLP în aceste circumstanţe au fost redate în capitolul I.3 şi II. Ele vor fi completate prin următoarele date.

Studii foarte recente efectuate de Heimberg şi colab. (83) demonstrează că după un prînz unic, bogat în grăsimi saturate, asistăm la scăderea lipolizei trigliceridelor adipocitare, concomitent cu apariţia AGL plasmatici proveniţi din lipidele alimentare ingerate a căror hidroliză

poate avea loc în endoteliul vascular al țesuturilor bogate în LPL. Aceste efecte, care presupun activitatea lipoproteinlipazică și inhibiția sistemului lipazic intraadipocitar, se explică prin faptul că trigliceridele alimentare cu lanț lung, prin intermediul pancreoziminei, au efect insulino-stimulant la fel ca și acizii grași liberi (85). În continuare, asistăm la încorporarea rapidă a AGL de proveniență alimentară în TG hepatice și apoi în VLDL.

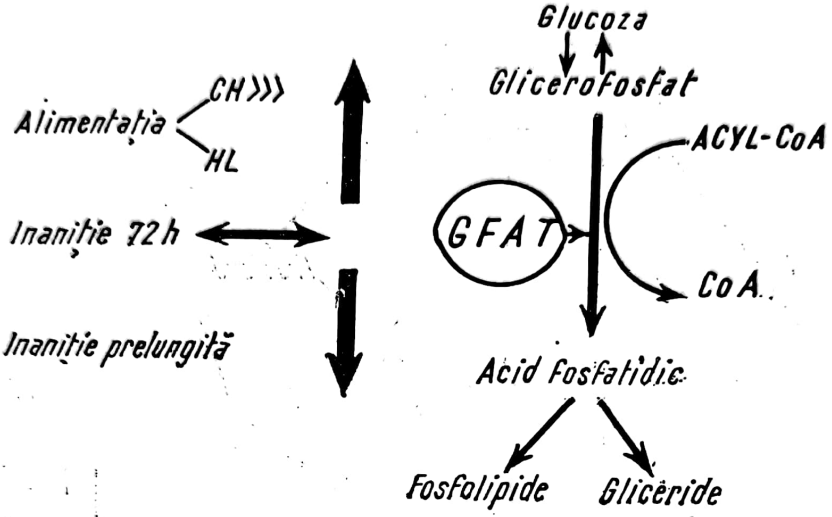


Fig. VI.26. — Rolul glicerofosfat — acil-transferazei (GFAT) în lipogeneza hepatică „de novo", modularea sa de către alimentația bogată în glucide rafinate, lipide neutre saturate, inaniție de scurtă durată sau de lungă durată (după Hâncu — 4).

Glicerofosfat-acil-transferaza, enzimă răspunzătoare de esterificarea AG cu alfa-glicerofosfatul, are o activitate crescută în stările care urmează unei diete hiperlipidice (52) (fig. VI.26). Acizii grași saturați induc sinteza și secreția unor molecule de VLDL mai mici și mai lent catabolizabile în comparație cu VLDL de dimensiuni mai mari, rapid catabolizabile (83). Cercetările lui Chapmam și colab. (86), efectuate la porc care era supus dietei hiperlipidice și bogată în colesterol, demonstrează în particulele lipoproteice intrahepatocitare modificări semnificative : creșterea colesterolului liber, colesterolului esterificat și fosfolipidelor în LDL și creșterea acelorași fracțiuni și, mai ales, a trigliceridelor în VLDL.

Aceste date adăugate la cele comentate în capitolele respective, explică creșterea concentrației VLDL și a LDL în urma dietei bogate în grăsimi neutre și colesterol.

Este de remarcat faptul că în țesutul hepatic provenit de la șobolani hrăniți cu dietă bogată în grăsimi neutre saturate, activitatea enzimelor răspunzătoare de sinteza AG nu a fost crescută (87).

Paralel cu modificările metabolismului lipidic în ficat, au loc modificări și în adipocit. Datorită inhibiției lipolizei și creșterii captării AGL din VLDL și chilomicroni, adipocitul va crește în volum, devenind treptat insensibil la acțiunea insulinei.

Trebuie menționat faptul că modificările hormonale și ale metabolismului lipidic produse de dieta normocalorică, bogată în lipide neutre

saturate şi colesterol, din punct de vedere cantitativ, sînt sub nivelul celor produse de dieta hiperzaharată (88). Aşa se explică rezultatele unor autori (89) care constată la şobolani scăderea activităţii LPL după alimentaţia cu lipide saturate, ceea ce a determinat pe Nestel (90) să conchidă că hipertrigliceridemia indusă de aceasta nu se datoreşte hiperproducţiei de trigliceride, ci scăderii *clearence*-ului lor periferic.

EFECTUL ALIMENTAŢIEI HIPERCALORICE

Se pare că în cadrul patoalimentaţiei excedentare, hipercalorismul global este cel mai frecvent întîlnit. Aici putem deosebi variante cantitative (moderat, intens sau excesiv hipercalorică) şi calitative (predominanţa zaharurilor rafinate, a lipidelor neutre saturate, a colesterolului, a alcoolului), ingerate în perioade de lungă sau de scurtă durată, sub forma unor mese fracţionate sau a unor prînzuri copioase, unice. De asemenea, este important de relevat rolul concomitent al cafelei, nicotinei şi oligoelementelor.

Mecanismele hiperlipoproteinemiante consecutive unei diete hipercalorice reprezintă, de fapt, sumarea datelor prezentate pînă acum. Vom expune, în continuare, unele particularităţi (90—92) :

— hiperinsulinismul este mult mai marcat în cazul unei diete hipercalorice predominante în zaharuri rafinate ;

— în explicarea efectului insulino-secretor al dietei hipercalorice, trebuie arătat şi rolul jucat de unii aminoacizi proveniţi din proteinele alimentare, dintre care leucina, valina, izoleucina (aminoacizi cuaternari) sînt cei mai importanţi (93). Aceşti aminoacizi pot fi invocaţi şi în hipersinteza de colesterol, cît şi în secreţia de STH şi glucagon ;

— o dietă hipercalorică în care predomină glucidele rafinate produce un hiperinsulinism net şi creşterea mult mai pronunţată a triglicteridelor serice. Deşi se demonstrează creşterea sintezei „de novo" a AG în adipocit, în urma dietei amintite, această cale nu este importantă din punct de vedere cantitativ, nici în accentuarea obezităţii şi nici în producerea hipertrigliceridemiei (hiper VLDL) care sînt de origine hepatică. La acest nivel operează mecanismele descrise anterior. Bjorntorp (97) estimează cantitativ rolul glucozei în sinteza TG şi AG intraadipocitari la obezi supuşi unei diete hipercalorice-hiperglucidice (3 200 calorii/24 ore, 50% fiind hidraţi de carbon) : 8 g de glucoză/24 h este utilizată pentru sinteza TG dintre care numai o mică parte este încorporată în acizi graşi ;

— frecvenţa meselor în cazul alimentaţiei hipercalorice are o importanţă deosebită. Astfel, Bray (94) demonstrează că un prînz unic hipercaloric induce creşterea sintezei AG şi TG în adipocit plecîndu-se de la piruvat. Creşterea activităţii glicerol-3-fosfatdehidrogenazei este martora acestui proces (fig. VI.27). Modificări similare au loc şi în ficat, în cadrul hiperlipogenezei adaptative (94). Apare deci logică afirmaţia conform căreia creşterea masei de ţesut adipos şi obezitatea sînt invers proporţionale cu frecvenţa meselor (96).

Scanned with OKEN Scanner

Deoarece în cadrul hipercalorismului alimentar global, consumul de cafea, alcool, alături de fumat, se poate interfera cumulativ cu metabolismul lipidic, le vom aborda succint :

— deşi nu se poate vorbi de o hiperlipoproteinemie indusă de consumul exagerat de cafea, unii autori comunică creşterea lipidelor totale şi a beta-lipoproteinelor după administrarea intravenoasă a cofeinei. Ace-

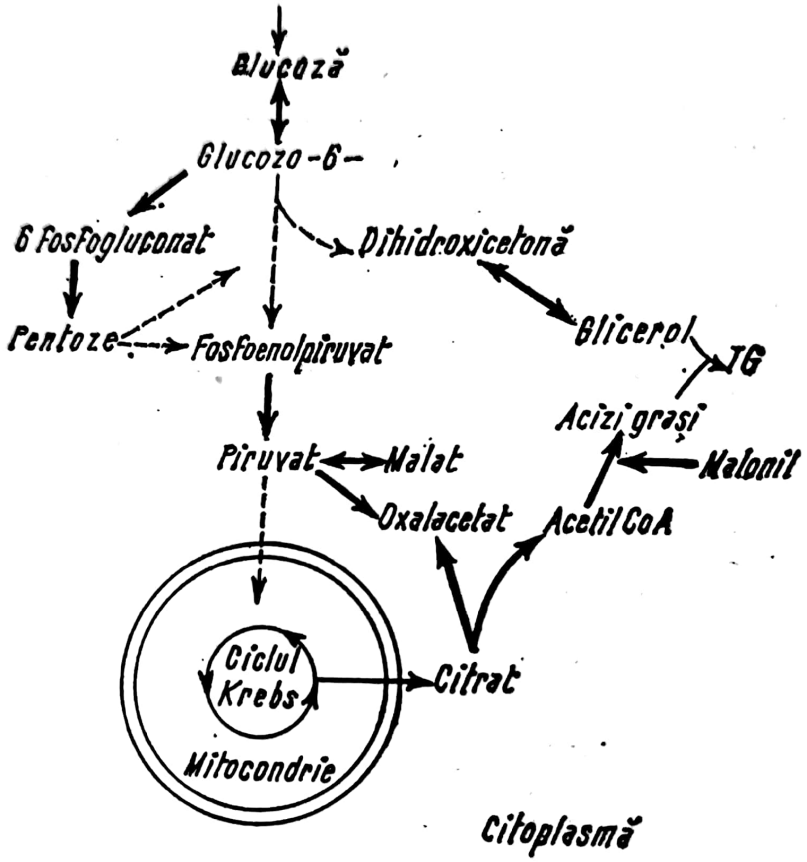


Fig. VI.27. — Modificările metabolice din ţesutul adipos de şobolan sau provenit de la pacienţi obezi în urma ingerării rapide (prînz unic-gorging) a unor cantităţi mari de alimente (hipercalorism global). La om este exacerbată numai calea dihidroxiacetonă — glicerol (simplificată după Bray — 94).

laşi efect este valabil şi pentru AGL (99—102). Deoarece metilxantinele stimulează secreţia de catecolamine (100) şi inhibă fosfodiesteraza adipocitară (101), efectul lipolitic este explicat. Ingestia de cofeină produce un hiperinsulinism marcat la obezi, fără a afecta AGL-mia care prezenta deja valori bazale crescute (102). Hiperinsulinismul postcafeinic nu apare la subiecţi normoponderali unde cafeaua potenţează totuşi efectul insulinogenic al glucozei. Aşa se explică reducerea efectului hiper AGL-miant al cofeinei în momentul în care se adaugă glucoză sau zaharoză. În ciuda acestor premize, lipidele serice nu sînt crescute la consumatorii de cafea (103). În acelaşi sens trebuie interpretată hiper AGL-mia consecutivă fumatului. Efectul nicotinei este mediat de catecolamine şi sistemul ner-

vos simpatic (104). Deşi frecvenţa HLP la fumători este mai mare decît la nefumători nu se poate vorbi de o hiperlipoproteinemie „caracteristică" fumătorilor.

Efectul hiperlipoproteinemiant al alimentaţiei hipercalorice trebuie corelat cu deficitul relativ de oligoelemente, deficit determinat de un consum exagerat de produse rafinate, conservate, sintetice. Astfel, s-a demonstrat rolul angionociv al deficitului de crom, mangan, vanadium, calciu, zinc, magneziu, litiu, cupru. Interferenţa acestor oligoelemente cu activitatea multor enzime ce intervin în metabolismul lipidic şi lipoproteinic, glucidic şi protidic, explică la modul general mecanismul lor de acţiune (105—112).

Pînă în prezent nu s-a demonstrat decît efectul hiperlipoproteinemiant produs de deficitul de magneziu. Dar se presupune acest efect şi în cazul celorlalte elemente. În figura VI.28 este ilustrat rolul protector al magneziului în aterogeneză şi interferenţa lui cu lipidele şi lipoprotei-

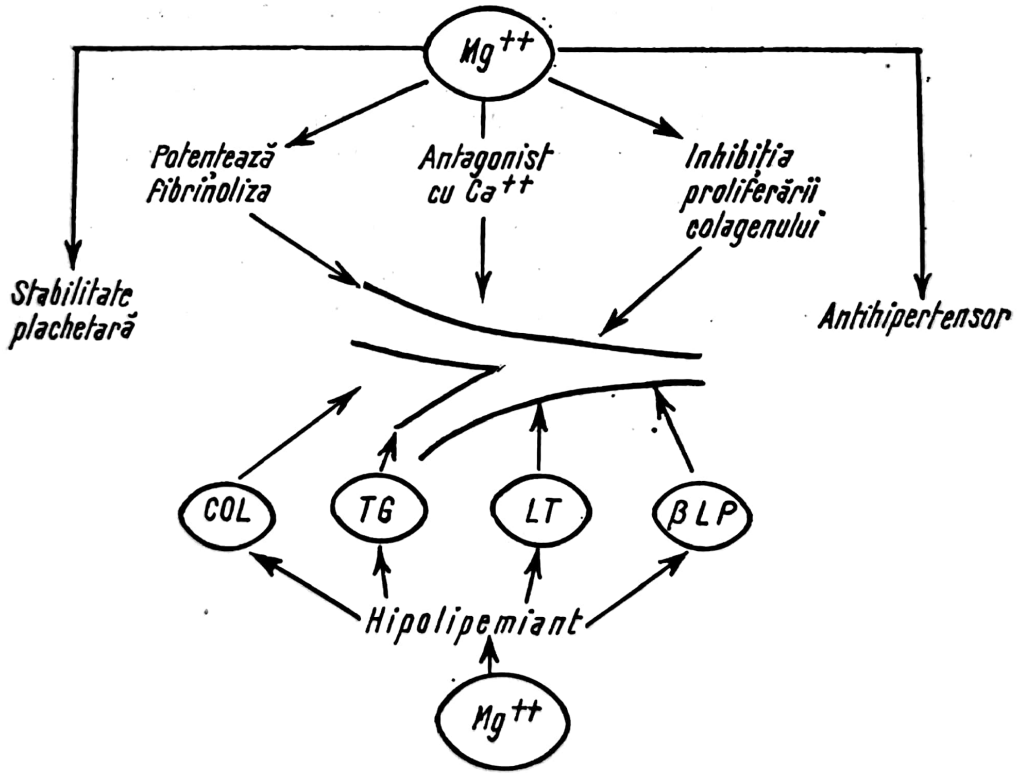


Fig. VI.28. — Efectul inhibitor al magneziului în aterogeneză (după Rigo — 112).

nele serice. Într-adevăr, carenţa în magneziu se însoţeşte frecvent de hipercolesterolemie sau hipertrigliceridemie (108—112). Explicaţia acestor modificări se face astfel : deficitul relativ de magneziu în cazul unei alimentaţii hiperzaharate orientează hexozele spre lipogeneză şi nu spre căile lor fiziologice de metabolizare, efect datorat perturbării enzimelor magneziodependente.

MODIFICAREA METABOLISMULUI LIPIDIC ŞI LIPOPROTEINIC ÎN OBEZITATEA SIMPLĂ

Apariţia HLP în obezitatea simplă constituită depinde de :

— modul de instalare al obezităţii (rapid sau lent) ;

— componenta genetică ;

— tipul alimentaţiei excedentare în perioada dinamică ;

— existenţa concomitentă a sedentarismului, *stress*-ului psihic, consumului de alcool, cafea sau al fumatului ;

— vîrsta obezului şi a obezităţii ;

— tipul modificărilor histologice din ţesutul adipos (hiperplazie sau hipertrofie adipocitară).

Mecanismele hiperlipoproteinemiante în obezitatea constituită reprezintă sumarea modificărilor metabolice prezentate în cadrul patoalimentaţiei excedentare. Datorită intervenţiei constelative, a factorilor de mai sus, rezultă variante ale mecanismelor hiperlipoproteinemiante cu consecinţe umorale cunoscute (hipertrigliceridemie, hipercolesterolemie, hiperlipidemie mixtă, HLP tip II A, II B, III, IV, V) (fig. VI.29). Complexitatea fenomenelor devine şi mai mare datorită posibilităţii scăderii treptate a toleranţei la hidraţi de carbon. Influenţele reciproce în cadrul cuplului diabet zaharat-obezitate, au repercusiuni incontestabile asupra metabolismului lipidic şi lipoproteinic, cît şi asupra HLP. În cele ce urmează, vom analiza mecanismele hiperlipoproteinemiante în obezitatea constituită fără modificări decelabile ale metabolismului glucidic.

a) *Patoalimentaţia excedentară în obezitate.* Majoritatea obezilor au un apetit exagerat, explicat prin tulburarea mecanismelor fiziologice de reglare a apetitului (113). Consecinţa va fi de regulă o alimentaţie excesivă caloric, cu predominanţa unora din principiile alimentare.

b) *Modificări hormonale bazale şi reactive în obezitate.* Tabloul hormonal tipic pentru obezitate este dominat de hiperinsulinismul bazal şi reactiv la care se asociază hipercortizolismul, scăderea secreţiei de glucogon şi STH în urma stimulării cu glucoză şi aminoacizi (57, 114).

O estimare cantitativă globală a secreţiei de insulină în obezitate este comunicată de Genuth (145) : 114 u/24 h, comparativ cu subiecţii normali : 31 u/24 h, diabetul zaharat juvenil : 4 u/24 h şi diabetul zaharat de maturitate însoţit de obezitate : 46 u/24 h.

Hiperinsulinismul obezilor apare treptat ca urmare a alimentaţiei patologice excedentare. Uneori poate fi invocat un factor genetic responsabil de hipersensibilitatea aparatului beta-insular la stimulii insulinogeni. Alteori se evidenţiază hiperplazia beta-insulară încă de la naştere, fiind legată de alimentaţia excesiv glucidică a mamei în timpul sarcinei.

În obezitatea constituită, hiperinsulinismul este gradat reprezentat deoarece este influenţat de mai mulţi factori.

Substratul histopatologic al obezității. Sjostörm și Björntorp (115) confirmă existența la om a 3 tipuri histopatologice de obezitate, și anume :

— obezitatea hiperplazică, hipercelulară, întîlnită la tineri și însoțită de creșterea marcată a masei adipoase totale, cît și a celularității corporale globale ;

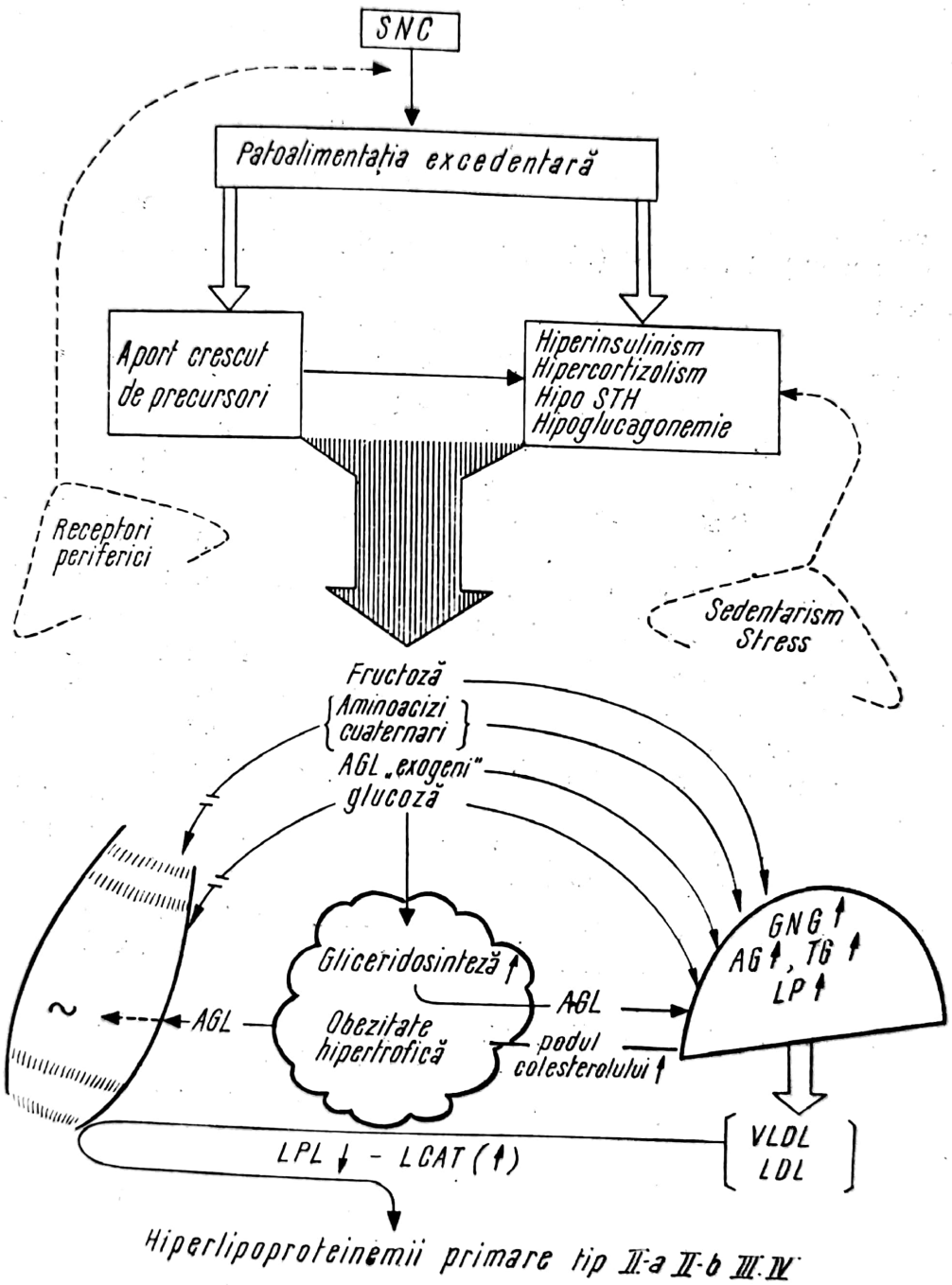


Fig. VI.29. — Mecanisme HL-HLP în obezitatea simplă.

— obezitatea hipertrofică cu debut după 25—40 de ani, cu o creștere moderată a masei adipoase totale, fără afectarea celularității corporale globale ;

— obezitatea mixtă (hipertrofică și hiperplazică).

În forma sa pură, obezitatea hipercelulară, hiperplazică nu se însoţeşte de tulburări ale metabolismului glucidic şi lipidic (118), în timp ce în obezitatea hipertrofică sau mixtă, apare hiperinsulinismul, hipertrigliceridemia, ulterior scăzînd şi toleranţa la glucide. Între volumul adipocitar, hiperinsulinism şi hipertrigliceridemie există chiar o corelaţie semnificativ statistică (116—118).

Antecedentele alimentare. S-a demonstrat că riposta insulinică este mai marcată la obezii care au consumat zaharuri rafinate în perioada de instalare a obezităţii (73).

Stimulii insulinogeni. Cu excepţia zaharurilor rafinate, a trigliceridelor şi AGL, al căror rol insulinogen l-am discutat, trebuie amintit că în obezitate există o blocare a utilizării aminoacizilor cuaternari, de către muşchi, astfel încît hiperaminoacidemia consecutivă va constitui un stimul insulino-secretor permanent (123). Un alt stimul insulinogen foarte important în obezitate este creşterea căii GNG (119).

Rezistenţa insulinică concomitentă. Aşa cum am arătat în capitolul anterior, rezistenţa insulinică poate apărea prin secreţia concomitentă a unui factor antiinsulinic de către pancreasul beta-insular, sau poate fi consecutivă hipertrofiei adipocitare (73). Rezistenţa insulinică legată de adipocit trebuie interpretată prin prisma a doi factori : volumul adipocitar şi durata hiperinsulinismului. Livingston şi colab. (120) demonstrează *in vitro* scăderea sensibilităţii la insulină a adipocitului de volum mărit, provenit de la şobolan, fenomen explicat prin alterarea interacţiunii dintre insulină şi receptorul specific membranar, cît şi prin modificarea transmiterii „semnalului" în interiorul celulei (120). Studii *in vitro* pe adipocitul uman, provenit de la subiecţi normoponderali sau obezi (hipertrofia adipocitară), nu confirmă acest lucru. Totuşi, concluziile unui studiu recent ni se par extrem de valoroase. Fineberg şi Merimee (122) au provocat hiperinsulinism prin perfuzii de insulină la subiecţi normoponderali. Se constată că scăderea sensibilităţii adipocitului la acţiunea insulinei apare numai după 57 de ore de la începutul experimentului. Durata hiperinsulinismului apare deci ca un parametru extrem de important în instalarea rezistenţei insulinice. În studiile anterioare se pare că acest parametru a fost neglijat.

Conform concepţiei lui Bjorntorp (117), unul din factorii cei mai importanţi care precipită instalarea rezistenţei la insulină este sedentarismul, explicat prin inactivitatea musculară. Ameliorarea hiperinsulinismului după creşterea regimului de mişcare la obezi este un argument care susţine această ipoteză.

c) *Metabolismul lipidic şi lipoproteinic în obezitatea simplă.*

• *Ţesutul adipos.* Obezitatea de tip hipertrofic sau mixt se însoţeşte cel mai frecvent de HLP. Adipocitul de volum crescut este mai activ din punct de vedere metabolic, în comparaţie cu cel de volum normal (118) :

— sinteza acizilor graşi (avînd ca precursor glucoza) şi a triglicerilor este exacerbată (92) ;

— activitatea enzimelor glicolitice este, de asemenea, exacerbată (117);

— datele asupra activității lipolitice a adipocitului hipertrofiat se referă la scăderea (117), creșterea (125) sau nemodificarea ei (126) în condiții bazale sau după stimularea cu noradrenalină, adrenalină sau teofilină (127). Acest spectru larg de variație credem că provine din diferența de vîrstă a pacienților, vechimea obezității și existența tulburărilor nedecelabile ale metabolismului glucidic.

În țesutul adipos, provenit de la pacienți cu obezitate simplă, s-au evidențiat modificări ale ciclului glicerofosfatului în sensul scăderii activității glicerofosfat-dehidrogenazei citoplasmatice și glicerofosfat oxidazei mitocondriale (135, 136). Aceasta ar fi explicația disponibilității crescute de alfa-glicerofosfat (din alimentația hiperzaharată), care, în prezența hiperinsulinismului, este utilizat pentru triglicerido-sinteză.

Creșterea masei țesutului adipos este incriminată și în hipercolesterolemia din obezitate (129—134). Astfel, în obezitate s-a descris creșterea secvenței „input" din metabolismul colesterolului, datorită creșterii producției sale endogene (130—132). Miettinen (129) estimează producția zilnică de colesterol la 20 mg/kg țesut adipos la obezi și de 12 mg/kg țesut adipos la normoponderali. Recent, Nestel (132) descrie la obezii normocolesterolemici creșterea turnoverului colesterolului, în funcție de excesul și celularitatea masei adipoase. Deși la obezi s-a remarcat creșterea excreției prin fecale a sterolilor, hipercolesterolemia din această boală nu poate fi explicată prin hipersinteza colesterolului în țesutul adipos (134), fenomen care, deocamdată, a fost demonstrat numai la maimuță (137). Existența hipersintezei de colesterol în țesutul adipos, sau poate chiar normosinteza într-un țesut adipos, care este însă bogat neprezentat, ar putea fi prezentă și la om din moment ce Nestel (130) evidențiază creșterea colesterolemiei cu 22 mg/kg exces corporal. În acest sens, ameliorarea hipercolesterolemiei, concomitent cu scăderea în greutate, este o dovadă elocventă a rolului țesutului adipos în metabolismul colesterolului în obezitate (134).

Totuși, recent, Schreibman și Dell (184) consideră că în obezitate și hipercolesterolemia (alături de hiper T.G. se datorește creșterii sintezei în ficat și intestin. Determinări cantitative de mare finețe nu susțin ideea conform căreia adipocitul ar fi responsabil de exacerbarea acestei căi metabolice în obezitate.

În ficat. Mecanismele hiperlipoproteinemiante în ficat sînt identice din punct de vedere calitativ cu cele descrise în cazul patoalimentației excedentare. Menționăm că hiperinsulinismul nu se validează în HLP decît în cazul aportului exogen de hidrați de carbon, așa cum s-a demonstrat în cazul observației lui Schersten și colab. (138).

Concomitent cu hiperlipoproteinogeneza, în ficatul obezilor au loc și alte modificări : 1) exacerbarea GNG (119) ; 2) scăderea cetogenezei (139). Aceste fenomene explică rezistența obezilor și a diabeticilor obezi la cetoză și la hipoglicemia indusă de alcool (119).

Creșterea activității serice a pseudocolinesterazei în obezitatea normo- sau hiperlipidemică și în HLP normoponderale, cît și corelația dintre această enzimă, colesterol și trigliceride serice (140), este o dovadă

elocventă a modificărilor sintezelor proteice hepatice. Fenomenul s-ar explica astfel : creşterea AGL-miei şi a captării AGL de către ficat conduce la creşterea butiril-CoA şi butirilcolinei. Acestea vor stimula sinteza sau activarea pseudocolinesterazei, enzimă care hidrolizează butiril-CoA (140). Creşterea activităţii pseudocolinesterazei şi ceruloplasminei, predominant în HLP tip IV, este un argument în favoarea acestei supoziţii (141), subliniind totodată intercondiţionarea lipidoproteică intrahepatocitară.

Hiperlipogeneza hepatică din obezitate are drept consecinţă histologică acumularea citoplasmatică a trigliceridelor (142), fenomen complex, dependent de mai mulţi factori şi manifestat clinic deseori prin hepatomegalie.

Cinetica lipidelor şi lipoproteinelor. Creşterea masei ţesutului adipos produce mărirea turnoverului colesterolului şi trigliceridelor în obezitate (116, 127, 129). Prin utilizarea testului intravenos al toleranţei la grăsimi (Intralipid) (143), se obţin rezultate care sugerează că prin mărirea ţesutului adipos nu creşte *clearence*-ul trigliceridelor exogene injectate. Rezultă că, în obezitate se măreşte *pool-ul* trigliceridelor plasmatice deoarece nu creşte proporţional şi adtivitatea LPL.

Referitor la activitatea LPL în obezitatea constituită, rezultatele converg spre scăderea activităţii ei (12, 39, 144). Relaţia dintre aceste modificări şi hiperinsulinism nu este însă interpretabilă în momentul de faţă.

Akamuka (172), evidenţiază, în obezitatea care evoluează cu hipercolesterolemie şi hipertrigliceridemie, creşterea activităţii serice a LCAT (fig. VI.30 (a şi b). În ficat aceasta ar fi sintetizată în exces, ca urmare a hipercolesterolemiei, care necesită transportul de la periferie spre ficat. Faptul că autorii demonstrează o corelaţie semnificativ statistică între

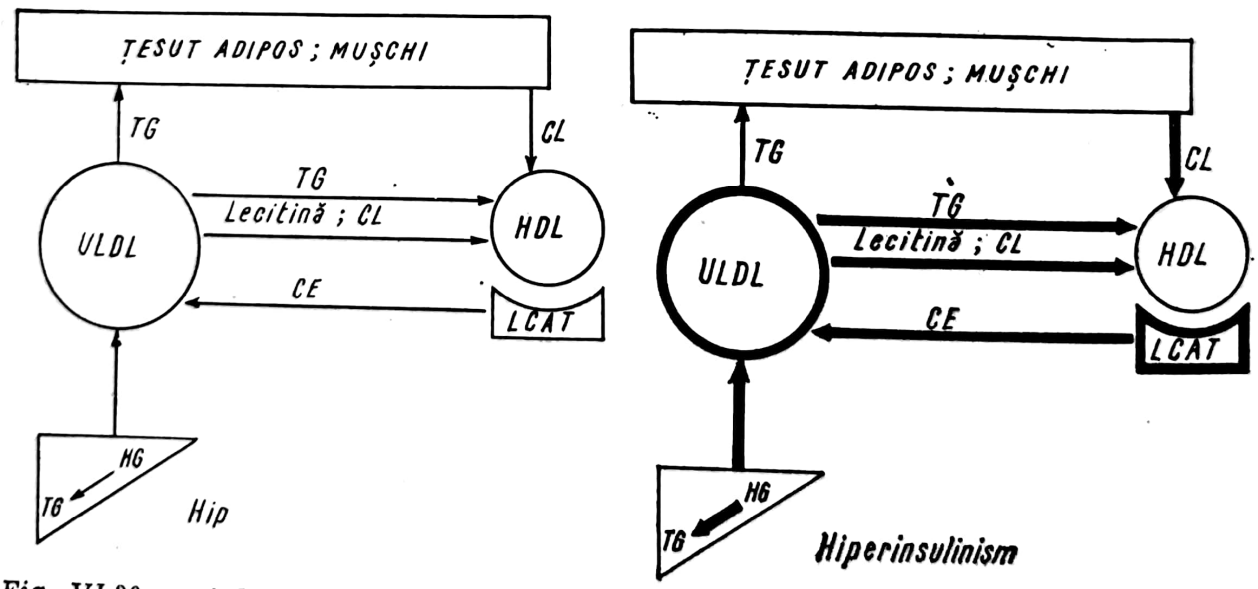


Fig. VI.30 a şi b — Relaţia ipotetică dintre hiperinsulinism, hiperlipoproteinemie şi creşterea activităţii serice a lizolecitincolesterol şi acil-transferazei (LCAT) la normali (a) şi în obezitate (b) (după Akamuka, 172)

(Cl : colesterol liber ; CE — colesterol esterificat ; HC — hidraţi de carbon ; TG — trigliceride ; simbolurile îngroşate marchează accentuarea liniei metabolice sau creşterea nivelului seric al produsului).

LCAT pe de o parte, şi colesterol liber, esterificat, trigliceride şi insulinemie pe de altă parte, trebuie să atenţioneze asupra acestei enzime care, alături de LPL, ar putea explica unele stări HL-HLP.

B. MECANISME HIPERLIPIDEMIANTE-HIPERLIPOPROTEINEMIANTE ÎN DIABETUL ZAHARAT

Mecanismele hiperlipidemiante-hiperlipoproteinemiante în diabetul zaharat sînt foarte complexe. Insuficienta cunoaştere a patogeniei diabetului zaharat se răsfrînge şi asupra explicării anomaliilor lipidice şi lipoproteinice din această boală. Totuşi, oricum am privi fenomenele, prin faptul că în cadrul aceleiaşi boli se evidenţiază toate cele 6 tipuri de HLP, se aduce o dovadă de necontestat la demonstrarea caracterului ei pluri-etiologic şi pluripatogenetic.

Pentru interpretarea HL-HLP în diabet, a producerii şi semnificaţiei lor, credem că este necesară acceptarea conceptului „asimetriei şi asincronismului" lezional metabolic ca modalitate operantă fundamentală în această boală. Termenul de „asimetrie şi asincronism" împrumutat din patologia hepatică (45) este deosebit de sugestiv în redarea succintă a unui tablou deosebit de complex. Complexitatea rezultă din variabilitatea comportamentului hormonal, metabolic şi cinetic nu numai ca intensitate, ci şi ca topografie sau fază evolutivă a bolii.

MODIFICĂRI METABOLICE ŞI HORMONALE

Diabetul zaharat este considerat ca o boală în care leziunea principală este „ineficienţa insulinică selectivă" (4). Termenul de „ineficienţă" se referă la : anomaliile secretorii, de transport, sau ale nivelului plasmatic al insulinei (disinsulinism : hiper- normo- sau hipoinsulinism), şi la tulburarea activităţii ei în majoritatea ţesuturilor. Termenul de „selectiv" se referă la modificarea diferenţiată a activităţii insulinice în funcţie de ţesut sau linia metabolică.

Alături de anomaliile insulinice, în diabetul zaharat sînt prezente şi alte modificări hormonale : hiperglucagonemie (modificarea raportului insulină/glucagon), hipercatecolaminemie şi hiper STH (44, 50, 145).

Aceste anomalii metabolice sînt de fapt „instantanee". Modificările lor calitative şi cantitative, în funcţie de forma clinică şi evolutivă a bolii, vor determina şi tablouri biochimice variate.

Astfel, diabetul zaharat de maturitate cu obezitate se caracterizează prin hiperinsulinism bazal şi reactiv, în timp ce în diabetul zaharat de maturitate cu normoponderabilitate apare normo- sau hipoinsulinismul, care în diabetul juvenil este net. Un tratament adecvat menţine „echilibrul" metabolic al diabeticului. În lipsa unei conduite terapeutice adecvate, apare decompensarea metabolică a bolnavului mergînd pînă la cetoacidoză comatoasă sau necomatoasă. Fenomenele sînt caracteristice diabetului de tip juvenil, dar pot fi prezente şi în diabetul zaharat de

Scanned with OKEN Scanner

maturitate. Este evident că tulburările metabolice consecutive acestor forme clinicohormonale de diabet sînt variate. Iată de ce şi mecanismele hiperlipidemiante-hiperlipoproteinemiante din această boală sînt felurite.

Se poate afirma la modul general că aceasta vizează atît secvenţa „imput-output" din metabolismul colesterolului, trigliceridelor şi AGL, cît şi al apolipoproteinelor. Acest ultim aspect devine extrem de interesant din momentul evidenţierii de către Schonfeld şi colab. a anomaliilor în turnoverul apoproteinelor din LDL (apo B-L în termenul folosit de autori).

MECANISME HIPERLIPIDEMIANTE-HIPERLIPOPROTEINEMIANTE ÎN DIABETUL ZAHARAT DE TIP ADULT (DE MATURITATE)

În cele mai multe cazuri este vorba de hipertrigliceridemie, hipercolesterolemie sau hiperlipidemie mixtă cu HLP tip II a, II b, III, IV. În explicarea mecanismelor hiperlipidemiante-hiperlipoproteinemiante (fig. VI.31) din această formă de diabet zaharat trebuie invocaţi următorii factori : obezitatea, hiperinsulinismul, rezistenţa insulinică, hiperglicemia, patoalimentaţia excedentară glucidică sau lipidică. Ca factori adiţionali nespecifici pot fi incriminaţi : sedentarismul, stressul psihic şi consumul de alcool. Nu este lipsită de interes şi posibila asociere a biliopancreatopatiilor (litiază biliară, pancreatită). Modul de acţiune al acestor factori este detaliat la capitolele respective.

Obezitatea în diabetul zaharat de maturitate este de tip hipertrofic (147). Acelaşi tip de obezitate este întîlnit şi în hipertrigliceridemia endogenă (148). Elementul de diferenţiere îl constituie hiperinsulinismul mai marcat în HLP tip IV. Este de remarcat faptul că obezii în momentul în care devin diabetici scad în greutate (147).

Existenţa rezistenţei insulinice este neîndoielnică, fiind explicată în primul rînd prin obezitatea hipertrofică şi chiar prin hiperlipoproteinemie (186).

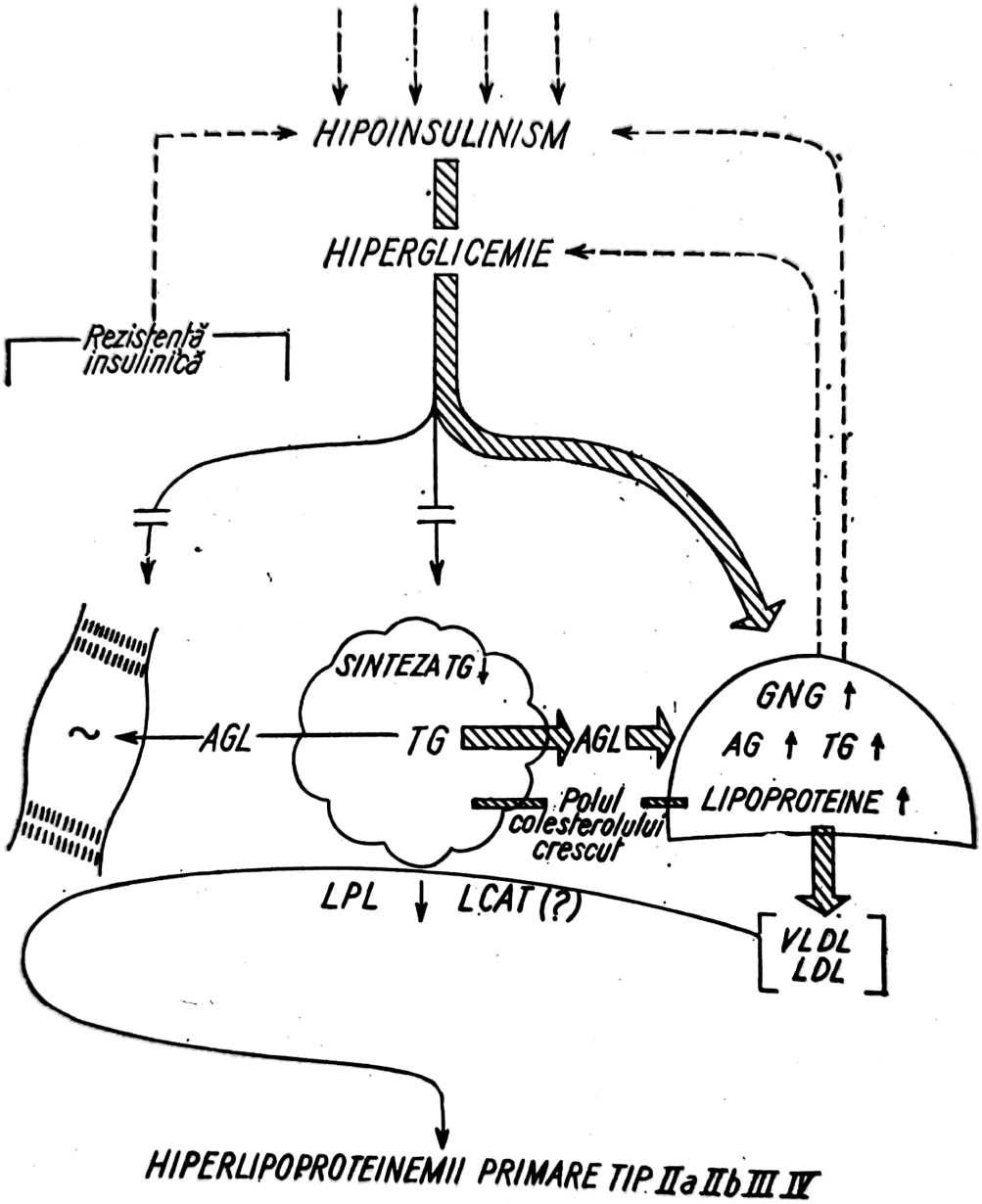
Hiperglicemia, martoră a tulburării metabolismului glucidic, apare ca urmare a ineficienţei insulinei selective la nivelul ficatului, ţesutului adipos şi muscular.

Existenţa simultană a acestor factori modifică implicit dimensiunile parametrilor metabolismului lipidic şi lipoproteinic, în special în ţesutul adipos şi hepatic.

În ţesutul adipos, atît captarea glucozei de către adipocit, cît şi glicoliza sînt afectate (149). Disponibilitatea de alfa-glicerofosfat este redusă, motiv pentru care sinteza gliceridelor este şi ea scăzută (149, 187). Scăderea reesterificării AGL din adipocit este cauza principală a creşterii lipolizei trigliceridelor, avînd ca efect hiperAGL-mia bazală din diabetul de maturitate cu obezitate (150). La aceasta se mai poate adăuga reducerea oxidării periferice a AGL (150). Administrarea orală de glucoză în diabetul zaharat de maturitate cu obezitate relevă scăderea glicerolului seric paralel cu a AGL denotînd sensibilitatea celulelor adipoase la acţiunea insulinei care inhibă lipoliza, dar nu poate asigura integritatea meta-

bolismului glucidic intraadipocitar (exemplu tipic de „selectivitate" a ineficienței insulinice.

Datorită obezității, se perturbă și echilibrul secvenței „input-output" din metabolismul colesterolului.



VI.31. — Principalele mecanisme HL-HLP în diabetul zaharat de maturitate și obezitate.

În ficat, asistăm la creșterea sintezei AG, TG, LP și a secreției lor, fenomene explicabile prin aport mărit de glucoză, AGL, cît și prin hiperinsulinism. La acest nivel este oferit un alt exemplu de ineficiență insulinică selectivă, prin inegalitatea lezională a metabolismului lipidic și glucidic (hiperlipogeneză concomitent cu augumentarea căii GNG).

Modificări de cinetică lipidică și lipoproteinică. Se demonstrează (151) că în această formă de diabet zaharat creșterea TG-VLDL (HLP tip

IV sau II b) apare ca urmare a creşterii secreţiei lor hepatice şi nu a tulburării *clearance*-ului lor periferic. Astfel, recent, Nikkila şi colab. (189) evidenţiază că activitatea lipoproteinlipazică plasmatică postheparinică este normală, în timp ce activitatea trigliceridlipazei hepatice este chiar crescută.

În diabetul zaharat de maturitate normoponderală, eficienţa insulinică se reduce, paralel cu nivelul ei seric, uneori apărînd dezechilibrarea diabetului zaharat. În aceste cazuri, lipoliza trigliceridelor se accentuează concomitent cu hiperglicemia. Este posibilă acum şi scăderea activităţii LPL, motiv pentru care *clearence*-ul TG-VLDL să fie redus.

Menţionăm faptul că uneori, tratamentul diabetului zaharat de maturitate cu sulfonilureice poate induce apariţia HL-HLP (152).

MECANISME HIPERLIPEMIANTE-HIPERLIPOPROTEINEMIANTE ÎN DIABETUL DE TIP JUVENIL

În această formă de diabet zaharat deosebim cel puţin 3 eventualităţi : diabet zaharat de tip juvenil echilibrat, dezechilibrat fără cetoacidoză sau cu cetoacidoză (comatoasă sau necomatoasă).

Leziunea principală, comună acestor trei eventualităţi este ineficienţa insulinică din ce în ce mai accentuată, de data aceasta consecutivă deficitului secretor beta-insular, şi, în subsidiar, transportului sau acţiunii ei periferice. Se adaugă hiperglucagonemia şi hipersomatotropismul (48, 145).

Mecanismele hiperlipidemiante, — hiperlipoproteinemiante sînt diferite în funcţie de aceste eventualităţi (fig. VI.32).

a. *În diabetul zaharat juvenil echilibrat.* La nivelul ţesutului adipos, lipoliza se accentuează consecutiv ineficienţei insulinice care, concomitent, afectează captarea şi metabolizarea glucozei (scade alfa-glicerofosfatul şi gliceridosinteza) (153). Hiperlipidemia şi hiperglicerolemia sînt efectele serice ale afectării metabolismului adipocitar.

În ficat, modificările metabolismului lipidic şi lipoproteinic sînt diversgent interpretate în literatură. Astfel, captarea AGL şi a TG din plasmă sau chilomicroni este crescută. Încorporarea palmitatului-C^{14} în TG este nemodificată (Heimberg, 159—160), în timp ce Corder (158), comunică creşterea acestei linii metabolice la fel ca şi încorporarea glicerolului în trigliceride. Sinteza colesterolului şi esterificarea sa este scăzută, datorită deficitului de NADH (22, 158). Aceeaşi depresionare este notată în cazul sintezei fosfolipidelor şi a încorporării aminoacizilor în lipoproteine (160—162). Secreţia TG—VLDL este scăzută, datorită deficitului insulinic şi creşterii glucagonemiei, modificări care induc şi exacerbarea cetogenezei (157, 163).

Cercetări cinetice, efectuate de Nikkilla (151), evidenţiază creşterea moderată a producţiei de TG plasmatice, fenomen explicat prin hiper AGL-mia şi hiperglicemia concomitentă. De fapt, se afirmă că hiperglicemia ar fi un factor care operează independent în controlul sintezei şi

secreției TG—VLDL (151). Corelația hiperglicemie-trigliceridemie în diabetul zaharat, în lipsa cetoacetozei, ar fi în sprijinul acestei idei. Scăderea activității LPL, evidențiată în diabetul zaharat de tip juvenil (4,39), este adusă în discuția explicativă a cauzelor hipertrigliceridemiei (de fapt ar putea exista o perturbare în catabolismul VLDL și LDL și datorită activității modificate a LCAT). Recent, Nikkilla și colab. (189) demons-

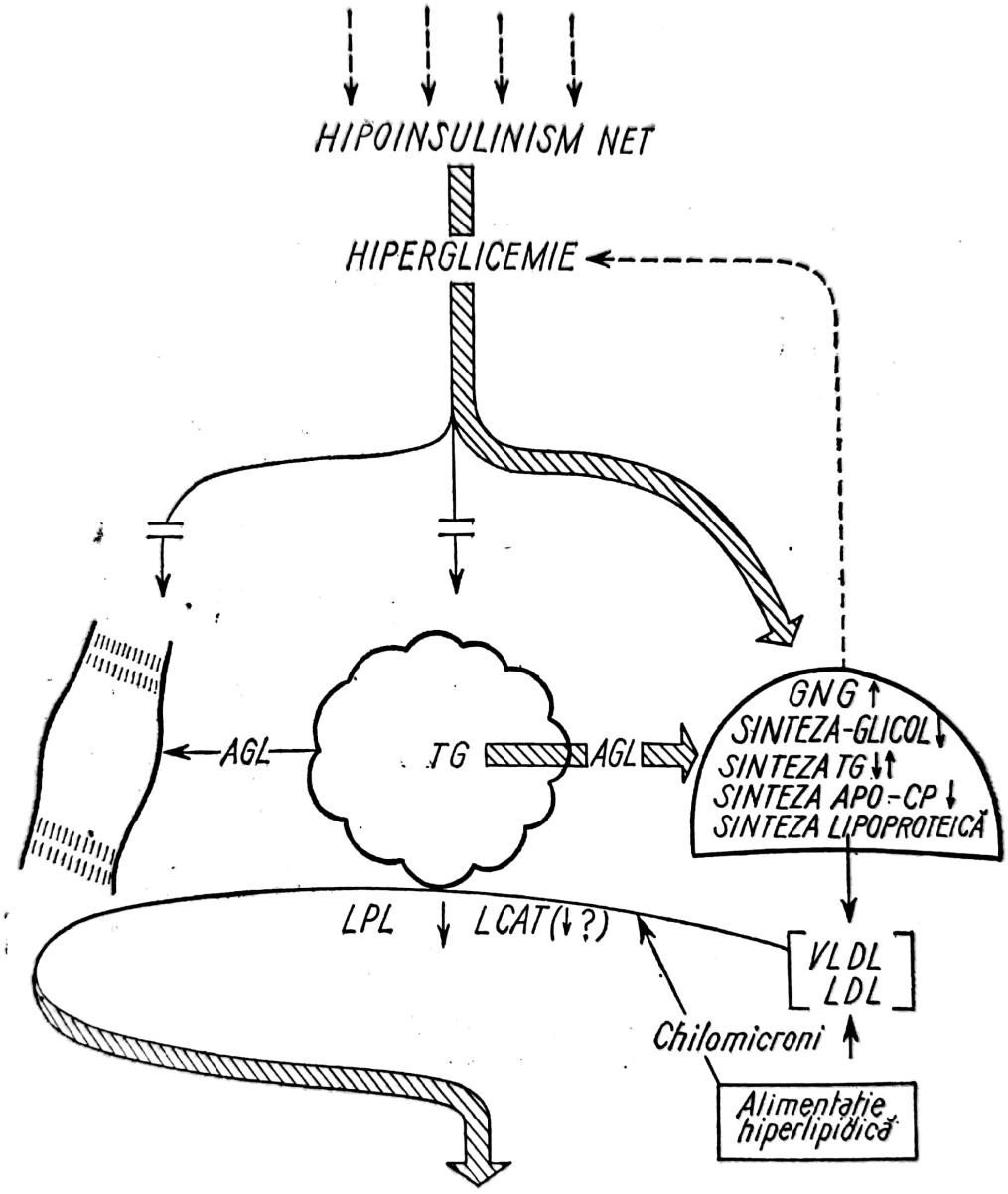


Fig. VI.32. — Principalele mecanisme HL-HLP în diabetul zaharat de tip juvenil echilibrat sau dezechilibrat.

trează că, de fapt, este vorba de scăderea selectivă numai a activității lipoproteinlipazice plasmatice postheparinice, în timp ce trigliceridlipaza hepatică este normală.

b. *Diabetul zaharat de tip juvenil decompensat fără cetoacidoză.* În acest caz, este vorba de un tablou patogenetic particular reprezentat de HLP tip I. Această formă de HLP este cauzată pe de o parte, de deficitul LPL consecutiv deficitului insulinic şi, pe de altă parte, de alimentaţia bogată în lipide saturate. Cercetările experimentale confirmă supoziţia (155—156).

În afara HLP tip I se mai pot întîlni şi celelalte tipuri de HLP, care apar prin mecanismele descrise la diabetul zaharat de tip juvenil „echilibrat".

Din punct de vedere cinetic (151) se notează creşterea turnoverului TG—VLDL, în timp ce *clearance*-ul lor periferic este normal, fapt ce nu poate fi corelat cu scăderea activităţii LPL.

c. *Diabetul zaharat de tip juvenil cu cetoacidoză comatoasă sau necomatoasă.* În această eventualitate, la nivelul celulelor adipocitar, hepatocitar şi probabil muscular (166) ineficienţa insulinică este absolută, ceea ce conduce la hipercetogeneză concomitent cu hipersinteza TG (fig. VI.33). Datorită redu-

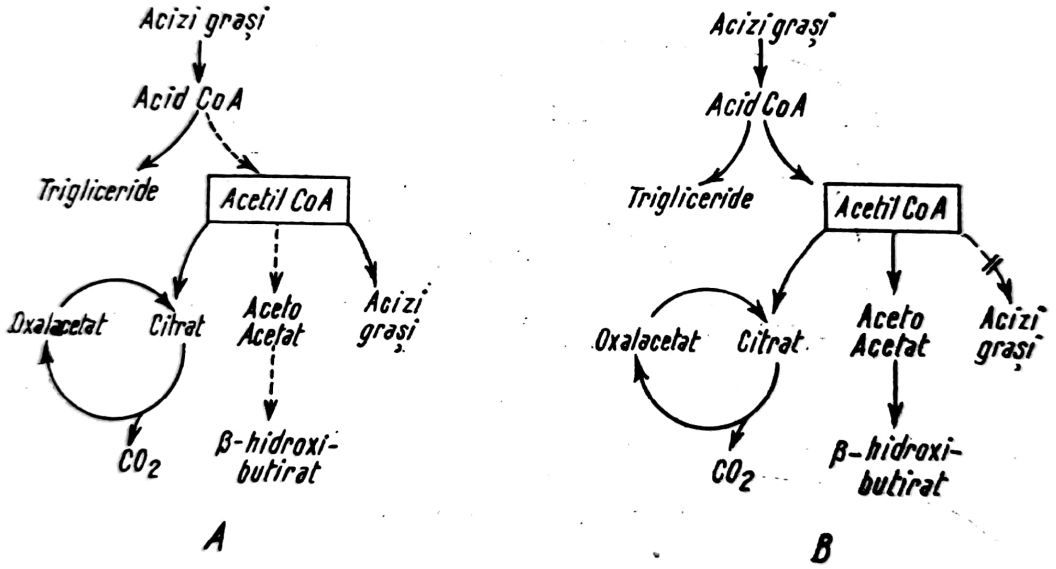


Fig. VI.33. — Cetogeneza normală (A) şi exacerbarea ei în diabetul zaharat cu ineficienţă insulinică absolută (13) (modificată după Mc Garry şi Foster — 164).

cerii activităţii ciclului Krebs, acetil CoA poate fi utilizată şi la sinteza colesterolului (într-o măsură mai redusă decît pentru cetogeneză sau trigliceridosinteză) (165). Hiperaportul de AGL şi glicerol spre ficat este consecinţa exacerbării lipolizei trigliceridelor adipocitare, concomitent cu depresia activităţii LPL (165) ; în prezenţa unei diete hiperlipidice, aceste modificări se pot valida în HLP tip I sau tip V.

Cinetica TG în cetoacidoza diabetică relevă creşterea producţiei, concomitent cu scăderea *clearance*-ului periferic (151).

În diabetul zaharat de tip juvenil, decompensat cu sau fără cetoacidoză, există o discrepanţă între hipersinteza TG şi scăderea sintezei

fosfolipidelor, colesterolului, cît și a secreției LDL și VLDL. De aceea asistăm la depunerea TG sub forma picăturilor gliceridice citoplasmatice în hepatocit (creșterea *pool*-ului II al trigliceridelor hepatice).

MECANISME HIPERLIPIDEMIANTE-HIPERLIPOPROTEINEMIANTE ÎN PREDIABET

Anomaliile lipidice și lipoproteinice serice din aceste faze evolutive ale diabetului sînt interpretate din punct de vedere patogenetic prin aceiași factori care au fost discutați în cazul diabetului manifest. Evident, ei au o pondere diferită atît calitativă, cît și cantitativă. În marea majoritate a cazurilor este prezentă obezitatea, ceea ce amplifică potențialul hiperlipoproteinemiant. Recent (182), s-a demonstrat existența rezistenței insulinice la subiecți normoponderali cu diabet zaharat chimic și hiperinsulinism. Faptul este deosebit de important, deoarece permite prefigurarea unor interpretări conceptuale, în contextul celor discutate pînă în prezent.

MECANISME HIPERLIPIDEMIANTE-HIPERLIPOPROTEINEMIANTE ÎN COMA HIPEROSMOLARĂ

Se comunică două cazuri de comă hiperosmolară în diabetul zaharat, însoțite de creșterea TG și AGL (168), deși în descrierea clasică lipacidemia este scăzută (167). Valorile revin la normal după restaurarea normoosmolarității. Pînă în prezent nu există explicații plauzibile ale modificărilor lipidice în această situație (cauzate în parte de lacunele patogeniei comelor hiperosmolare).

MECANISME HIPERLIPIDEMIANTE-HIPERLIPOPROTEINEMIANTE ÎN DIABETUL LIPOATROFIC

Mecanismele hiperlipidemiante-hiperlipoproteinemiante în diabetul lipoatrofic sînt explicate prin hiperAGL-mia cronică, hiperinsulinism cu rezistență insulinică mult crescută, hiperglicemie, factori suficienți pentru a induce o creștere a sintezei hepatice de TG—VLDL. Hipercolesterolemia însoțește în aceste cazuri hipertrigliceridemia. În eventualitatea unui aport exagerat de lipide neutre, episodic apare hiperchilomicronemie, aducînd în discuție insuficiența mecanismelor de clarifiere a plasmei (169—171).

VI.9.5. PRIVIRE INTEGRATIVĂ ASUPRA HIPERLIPOPROTEINEMIILOR DIN OBEZITATE ȘI DIABETUL ZAHARAT

La sfîrșitul acestui capitol, se impune o discuție integrativă asupra HLP, diabetului zaharat, obezității și patoalimentației excedentare, motivată de potențialul lor aterogen. Sarcina ce ne-o asumăm nu este ușoară, deoarece controversele în acest domeniu vizează nu numai mecanismele patogenetice de finețe, ei însuși cadrul lor gnoseologic.

În țara noastră, Moga și colab. au emis cu mulți ani în urmă, teoria bolilor produse prin tulburări complexe de reglare (173). Inițial au fost

aduse în discuţie ateroscleroza şi hipertensiunea, ulterior s-au adăugat obezitatea, diabetul zaharat, hiperlipidemiile şi tulburările de coagulare şi fibrinoliză. Aceste boli nu sînt în relaţie „de subordonare cauzală", ci, coordonate, avînd unii factori etiologici şi mecanisme de producere comune — alţii care îi diferenţiază" (172). Această orientare a stat la baza teoriei metabolice a aterosclerozei stabilindu-se prin aceasta necesitatea şi utilitatea elaborării conceptului ateroprofilaxiei.

Ultimii ani au fost deosebit de fructuoşi în cercetări şi comunicări analitice asupra acestor boli. Ele permit efectuarea unor sinteze conceptuale periodice, care se dovedesc nu numai de importanţă teoretică, dar şi de un real folos practic, întrucît aduc contribuţii la acţiunile profilactice şi curative care vizează ateroscleroza.

După părerea noastră cea mai logică atitudine în faţa bolilor angionocive este recunoaşterea inducerii lor coordonate atît genetic, cît şi prin factori postnatali „cîştigaţi", dintre care cei ecologici sînt de o importanţă covîrşitoare.

În această accepţiune, ar fi posibilă eventualitatea existenţei unui capital ereditar (zestre ereditară) formată din genoame „metabolice" înrudite, afectate concomitent. Multitudinea aspectelor metabolismului lipidic, relaţia lui intimă cu metabolismul glucidic şi protidic, presupune o astfel de dereglare poligenomică. În funcţie de gradul afectării genoamelor, de penetranţa lor, şi mai ales de suprapunerea factorilor postnatali, este posibilă apariţia diferitelor forme ale bolilor respective după cum urmează (fig. VI.34).

— HLP familiale, genotipul homozigot, începînd din primele luni de viaţă cu apariţia posibilă pînă în decada a IV-a de viaţă ;

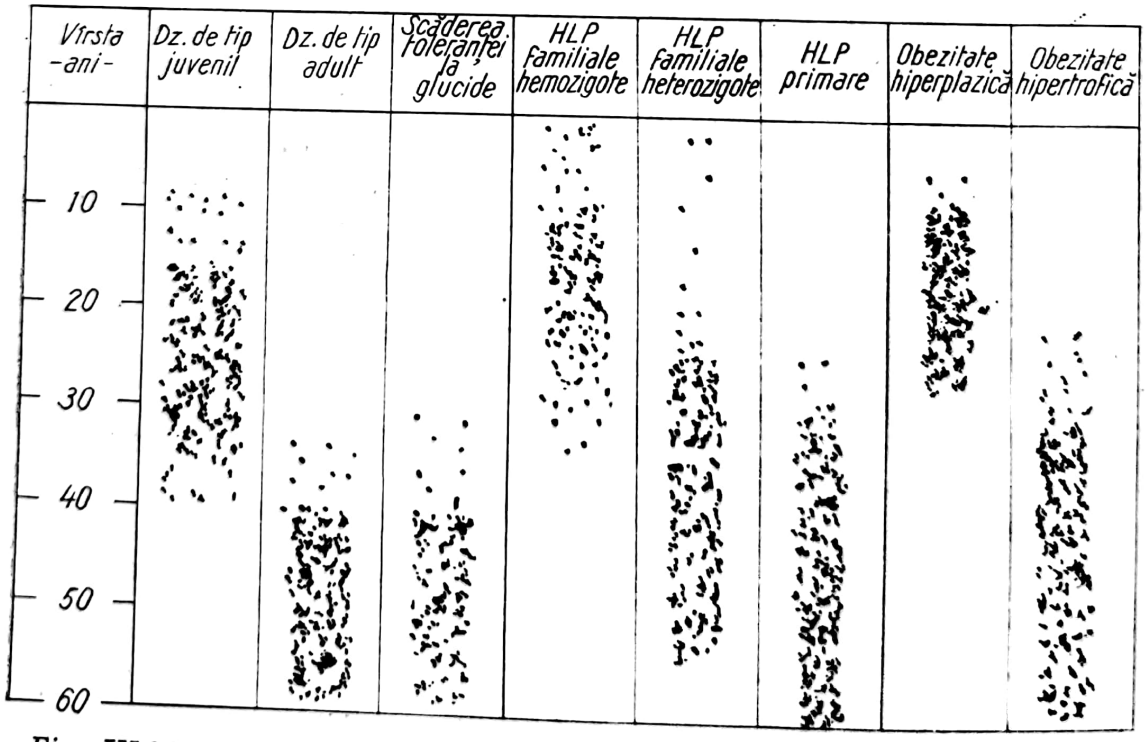


Fig. VI.34. — **Reprezentarea schematică a frecvenţei obezităţii, diabetul zaharat şi HL-HLP în funcţie de vîrstă.**

— HLP familiale, genotipul heterozigot, manifestate clinic mult mai tîrziu, alteori rămînînd numai un stigmat biochimic, dar care poate fi diagnosticat încă în sîngele ombilical.

— Diabetul zaharat de tip juvenil, forma ereditar, în forma sa manifestată clinic, de regulă pînă la 25—30 ani. Existenţa prediabetului, a diabetului zaharat latent şi chimic precede însă cu mult această fază evolutivă. Fenomenul nu este valabil în cazul diabetului zaharat de tip juvenil „cîştigat".

— Diabetul zaharat de tip adult, care apare după vîrsta de 40 de ani, cu cele două forme ale sale — ereditară şi cîştigată —, prima formă fiind precedată de fazele descrise (prediabet, diabet zaharat latent şi chimic).

— Obezitatea hiperplazică apare pînă la vîrsta de 25—30 de ani, iar obezitatea hipertrofică ulterior.

— Hiperlipoproteinemia primară din diabetul zaharat şi obezitate, apare în diferite faze ale bolilor respective.

O privire crossecţională în decadele de vîrstă III, IV, V (25—45 de ani), ne oferă aspectul incidenţei maxime a bolilor cu mare potenţial angionociv ; obezitatea hipertrofică, diabetul zaharat de tip juvenil şi de tip adult, hiperlipoproteinemiile primare sau familiale (formele heterozigote). Dacă adăugăm faptul că în această perioadă intervin şi alţi factori de risc vascular (hipertensiune arterială, patoalimentaţia excedentară, *stress-ul* psihic, sedentarismul), avem o solidă argumentare a imperativului ateroprofilaxiei, cel puţin prin profilaxia şi tratarea acestor boli.

Care este însă relaţia patogenetică între aceste boli ? Ultimele două decenii au abundat în postulări asupra acestor probleme. Nu le vom reproduce. Încercăm o sinteză în funcţie de datele prezentate anterior.

Constatările lui Bjorntorp şi colab., hipertrofie adipocitară prezentă constant şi determinant în obezitatea normolipidemică a adultului, în diabetul zaharat de maturitate obez, în hipertrigliceridemia endogenă (în special HLP tip IV), cît şi la pacienţii supraponderali cu infarct miocardic în antecedente aduc un argument extrem de subtil în favoarea filiaţiei patogenetice între aceste boli (fig. VI.19). La aceasta se adaugă şi observaţia lui Carlson (185) care evidenţiază scăderea conţinutului în acizi graşi polinesaturaţi (acizii linolenic şi arahidonic) în ţesutul adipos, la subiecţii cu hipertrigliceridemie şi scăderea toleranţei la hidraţii de carbon.

Pe ce căi se ajunge la hipertrofia adipocitară care sînt implicaţiile sale :

În jurul vîrstei de 25 de ani, are loc fixarea numărului de adipocite, care, în general, rămîne constant. O serie de factori pot induce ridicarea pragului numărului de adipocite : factorul genetic, patoalimentaţia excedentară (în special excesul de zaharuri rafinate), boli care au afectat diencefalul, sedentarismul. Hipercelularitatea ţesutului adipos perturbă reacţiile de reglare ale comportamentului alimentar, care, în prezenţa prosperităţii materiale, cît şi a unui viciu familial de comportament alimentar, stă la baza patoalimentaţiei excedentare ulterioare. Aceasta induce hiper-

trofia adipocitară prin mecanismele arătate anterior. Oricum, excesul alimentar, caloric sau glucidic, este un factor cauzal al hiperinsulinismului (alături de o posibilă hipersensibilitate beta-insulară moştenită, şi/sau al atagoniştilor insulinici. Ne găsim deci în prezenţa unor factori patogenetici hiperlipidemianţi certi: sucroza, hipertrofia adipocitară (obezitate) şi hiperinsulinismul, care, potenţaţi de *stress*, sedentarism, nicotină, cafea şi alcool, produc HLP tip II a, II b, IV şi III (mai rar).

Treptat însă, secreţia insulinică se reduce, apare scăderea toleranţei la hidraţi de carbon cu fazele ei descrise şi, implicit, cu noi linii patogenice hiperlipidemiante. Această supoziţie este susţinută de Björntörp şi Tibblin (118), care demonstrează la subiecţii născuţi în anul 1913 (studiul epidemiologic de la Göteborg), că incidenţa diabetului zaharat a fost mai mare în cazul evidenţierii hipertrigliceridemiei la examinarea iniţială din 1963.

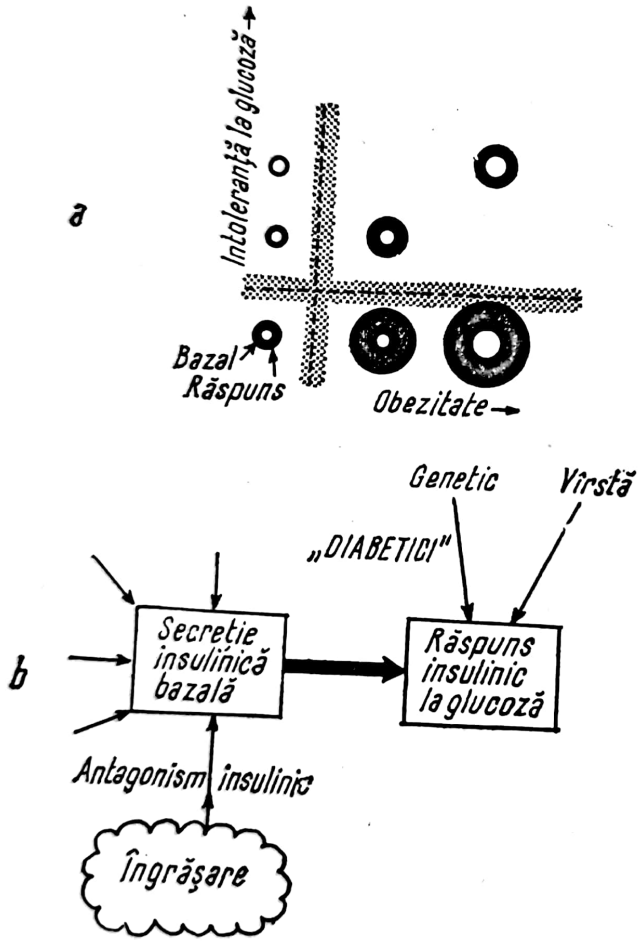


Fig. VI.35. a — Diagrama reprezentării modificării insulinemiei bazale (zona centrală) şi insulinemiei reactive acute (zona periferică cu scăderea progresivă a toleranţei la glucide (verticală) şi obezitate (orizontală). b — Ipoteza mecanismului reglării secreţiei de insulină prin interacţiunea dintre obezitate şi diabetul zaharat genetic (după Bierman şi colab. — 173).

Se impun unele detalii asupra acestui comentariu, care totuşi nu vor reuşi să suplinească neajunsurile unei astfel de sinteze.

● *Diabetul zaharat şi obezitatea* sînt considerate ca un „cuplu nedespărţit" (173). Hiperinsulinismul obezităţii poate masca multă vreme diabetul zaharat. În figura VI.35, redăm, după Bierman şi colab. (173), această relaţie complexă între obezitate, scăderea toleranţei la glucide şi secreţia insulinică. Un alt mod de reprezentare al acestei asociaţii este cel din figura VI.36.

● *Între diabetul zaharat şi HL—HLP relaţiile* trebuie privite şi prin prisma influenţei toleranţei la glucide de către stările HL—HLP. Problema este extrem de controversată. Încă din anul 1963, Randle emite ipoteza rolului diabetogen al hiper AGL-miei, care ar fi factorul primar în etiopatogenia bolii (176). Numeroase controverse s-au iscat în jurul acestei ipoteze, fără a o putea însă elucida (177).

Recent, Bierman susține că hipertrigliceridemia nu influențează toleranța la glucide (178), iar Keen afirmă că hipertrigliceridemia, indusă prin injecții intravenoase de Intralipid, nu reduce decît nesemnificativ toleranța la glucide (179). Totuși, Vogelberg (180) remarcă, în diabetul zaharat dezechilibrat cu hipertrigliceridemie primară, ameliorarea hiperglicemiei numai după scăderea trigliceridelor serice doza de insulină exogenă fiind tot timpul nemodificată. Aceasta este o dovadă clară a rezistenței insulinice produsă de hipertrigliceridemie.

O problemă conceptuală deosebită este ridicată de cele două tablouri extreme ale bolilor de mai sus : diabetul zaharat de tip juvenil (ereditar sau cîștigat) și hiperlipoproteinemiile familiale (în special genotipurile homozigote).

În patologia lor biochimică, sînt destule elemente comune care le permit o apropiere nosologică, dar concomitent se evidențiază pregnant

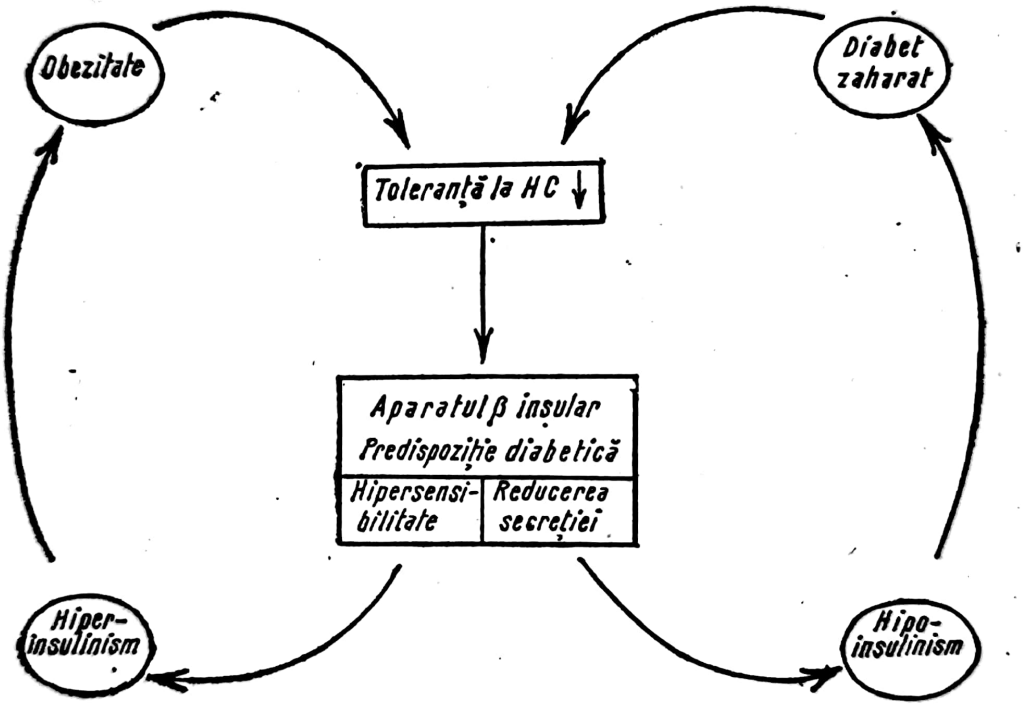


Fig. VI.36. — Interrelația între obezitate și diabetul zaharat (după Ditschuneit — 174).

și elemente de diferențiere. În mod neîndoielnic, intensitatea și penetranța perturbării genomelor afectate, în prezența unor factori cîștigați predominant hiperlipidemianți sau diabetogeni, sînt circumstanțe care decid apariția anomaliei pe plan biochimic și/sau clinic.

Revenim asupra argumentației majore care ne-a determinat ca, tangent cu stările HL—HLP, să dezbatem în această sistematizare problema patoalimentației excedentare, a obezității și diabetului zaharat : *creșterea frecvenței lor sub forma acestui grupaj, aflat în filiație certă cu ateroscleroza.*

VI. 10. HIPERLIPOPROTEINEMIILE PRIMARE IATROGENE

VI.10.1. INTRODUCERE — CADRUL NOSOLOGIC

HL—HLP induse de medicamente sînt introduse în grupul HL—HLP primare, deoarece se presupune că boala apare la subiecţii cu anomalii latente ale controlului poligenomic al metabolismului lipidic şi lipoproteinic. Acestea se transformă în HL—HLP după administrarea unor medicamente. Pînă în prezent se cunosc HL—HLP induse de glucocorticoizi, estrogeni, anticoncepţionale, thiazide. Teoretic, există posibilitatea ca multe droguri să se interfereze cu metabolismul lipidic, însă pentru producerea HL—HLP este necesar un tratament de durată lungă. Oricum, este posibil ca lista de mai sus să fie îmbogăţită.

VI.10.2. HIPERLIPIDEMII — HIPERLIPOPROTEINEMII INDUSE DE HORMONI SEXUALI

Prototipul acestor forme de HLP sînt cele care apar în urma tratamentului cu anticoncepţionale. Anticoncepţionalele sînt un amestec de estrogeni şi progesteron în diferite proporţii. Aceste forme de HLP au fost semnalate în literatură încă de la jumătatea deceniului trecut (1,2). Ulterior, literatura asupra acestui subiect îmbogăţindu-se, s-a ajuns la delimitarea cadrului său nosologic şi parţial al mecanismelor patogenetice.

Aproximativ la 1/3 din femeile care timp de 3—4 cicluri menstruale urmează tratament antiovulator (1), apare hipertrigliceridemie, în special sub forma HLP tip IV sau V. Vîrsta şi ponderea se pare că nu afectează anomalia, spre deosebire de tipul anticoncepţionalului folosit, doza şi perioada de administrare. Nu se citează manifestări clinice induse de această HLP, decît în eventualitatea apariţiei durerilor abdominale, în contextul unei pancreatite asociate (10). De Gennes descrie istoria unei bolnave cu HLP familiale tip III, la care apar semnele unui accident vascular cerebral în urma tratamentului cu anticoncepţionale (11).

Tabloul biochimic se caracterizează prin hipertrigliceridemie, plasma fiind clară sau lactescentă (HLP tip IV). Hipertrigliceridemia este moderată (7). Întreruperea tratamentului cu anticoncepţionale duce la ameliorarea anomaliei lipidice. Activitatea LPL este scăzută. Uneori, concomitent cu HL—HLP, apare scăderea toleranţei la glucide (diabet zaharat).

În figura VI 37, sintetizînd datele din literatură, redăm mecanismele patogenice invocate în HLP tip IV indusă de anticoncepţionale. Acestea produc două modificări importante :

— hiperinsulinism, printr-un mecanism deocamdată necunoscut. Se presupune totuşi rolul obezităţii sau al STH-ului care este şi el stimulat, eventualitate în care ar constitui un antagonism periferic al insulinei (7. 12) ;

— depresia activității LPL (6—10).

Aceste două anomalii induc modificări ale secvențelor „input" și „output" din metabolismul trigliceridic ;

— creșterea secvenței „input", prin stimularea secreției hepatice de TG—VLDL (7) ;

— scăderea secvenței „output" prin inhibarea mecanismelor de catabolizare și îndepărtare a TG—VLDL din plasmă.

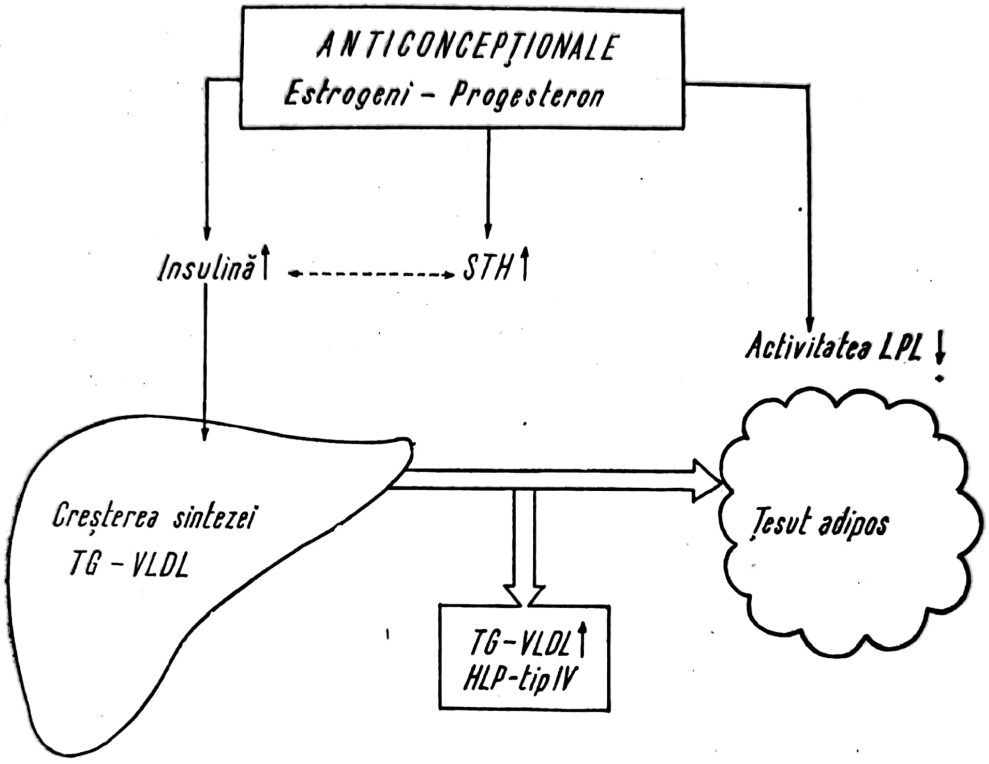


Fig. VI.37. — Mecanisme patogenetice invocate în producerea hiperlipoproteinemiei tip IV în urma tratamentului cu anticoncepționale.

Componenta estrogenică din anticoncepționale este responsabilă de modificarea secvențelor „input" și „output" din metabolismul trigliceridic (8, 7).

Derivatul progesteronic poate induce sinteza de colesterol, eventualitate pe care, de asemenea, o putem evidenția în cadrul HLP tip IV (8).

Estrogenii și progesteronul. Gloss și colab. (citați de 3) nu evidențiază modificări în urma tratamentului cu extradiol la un bărbat cu adenom de prostată. La femei, se constată creșterea LDL. HDL cresc în ambele eventualități. Robinson (citat de 3) constată, la femei aflate sub tratament estrogenic, scăderea HDL și LDL. Oliver și Boyd (citați de 3) demonstrează în timpul tratamentului cu doze mari de estrogeni, creșterea HDL și scăderea colesterolului din LDL.

Hormonii testiculari. Berezin și colab. (citați de 3) evidențiază scăderea HDL în urma tratamentului cu preparate de testosteron. Russ și Eder (citați de 3) demonstrează în aceleași circumstanțe terapeutice scăderea LDL și a VLDL.

VI.10.3. HIPERLIPIDEMIA — HIPERLIPOPROTEINEMIA STEROID INDUSĂ

Pagdade şi colab. (14, 15) descriu în anii 1969 şi 1970, două cazuri de HL—HLP, depistate după o corticoterapie prelungită.

Nu se semnalează modificări clinice produse de HL—HLP.

Tabloul biochimic se caracterizează prin hipertrigliceridemie extremă, cu hiperchilomicronemie, plasma avînd stratul chilomicronic prezent şi infranatantul clar, particularităţi ce au impus diagnosticul diferenţial de HLP tip I. Activitatea LPL este scăzută. Reducerea aportului lipidic (necontrolat pînă atunci) a condus la scăderea cu o treime a trigliceridelor serice. Se evidenţiază şi scăderea toleranţei la glucide.

Mecanismul patogenetic invocat în producerea acestei forme de HLP este complex. Probabil, pe un teren predispus genetic (anomalii latente ale controlului poligenic al metabolismului lipidic, lipoproteinic şi glucidic), glucocorticoizii au următoarele acţiuni (14, 15) :

— scad activitatea insulinică prin inhibiţie betainsulară directă ;

— deprimă activitatea LPL atît directă, cît şi pe calea hipoinsulinismului ;

— cresc sinteza şi secreţia hepatică a TG—VLDL (16) ;

— în prezenţa unei alimentaţii hiperlipidice, aceste anomalii se validează în HLP tip I (14, 15).

VI.10.4. HIPERLIPIDEMII — HIPERLIPOPROTEINEMII TIAZIDIC INDUSE

Încă din anul 1964, Schoenfeld (7) descrie apariţia hipercolesterolemiei în urma tratamentului cu derivaţi tiazidici. Sanbar (18) corelează modificările metabolismului lipidic, consecutive terapiei tiazidice, cu modificările metabolismului glucidic.

În anul 1969, Porte şi colab. (15) descriu două cazuri de hipertrigliceridemie severă depistate după tratament cu tiazide, concomitent cu apariţia diabetului zaharat manifest. În aceste circumstanţe, activitatea LPL era normală, dar insulinemia bazală s-a dublat (antagonism insulinic indus de tiazide ?).

Se conchide că în mecanismul de producere a acestei anomalii lipidice, trebuie invocată creşterea secreţiei hepatice de TG—VLDL, datorită hiperinsulinismului, probabil pe un teren genetic predispus. Sanbar (4) presupune inducerea acestui tip de HL—HLP ca fiind secundară anomaliilor metabolismului acidului uric, care apar concomitent.

VI. 11. HIPERALFALIPOPROTEINEMIA

Hiperalfalipoproteinemia (hiper-HDL) a fost aproape complet neglijată de către lipidologi, deşi a fost semnalată în diferite circumstanţe, ca de exemplu : alcoolismul (1), terapia estrogenică (2), intoxicaţia cu pesticide pe bază de clor (3). În 1974 Glueck şi col. (4) descriu o familie

cu 26 probanzi, la care s-a demonstrat existența hiperalfalipoproteinemiei, transmisă pe verticală de-a lungul a 3 generații. Asistăm astfel la prima semnalare a hiperalfalipoproteinemiei familiale, a cărei descriere a fost completată apoi de aceeași autori (5, 6).

Principalele caracteristici ale hiperalfalipoproteinemiei familiale sînt (4—6) :

— subiecții purtători ai anomaliei sînt aparent sănătoși, fără tulburări neurologice, cardiovasculare, avînd o speranță de viață lungă ;

— din punct de vedere biochimic se descrie : creșterea colesterolului seric total și a col. HDL, trigliceridemia este normală, la fel ca și col. VLDL, în timp ce col. LDL este scăzută.

În mod neîndoielnic, această primă observație necesită confirmări. Se lansează însă o ipoteză extrem de originală și îndrăzneață. Este vorba de posibilitatea ca hiperalfalipoproteinemia să fie un factor de protecție împotriva factorilor de risc aterogen cunoscuți.

Miller se asociază acestei ipoteze (7), iar ulterior Rhoades (8) demonstrează din punct de vedere epidemiologic corelația inversă dintre col. HDL și frecvența cardiopatiei ischemice, independent de obezitate, colesterolul total, sau alți factori de risc vascular.

Berg & Borrensen (9) utilizînd o metodă imunologică de determinare cantitativă, evidențiază scăderea HDL, la trei luni de la episodul acut de infarct miocardic. Cercetări epidemiologice vor trebui să releve valoarea discriminativă și predictivă a HDL în aterogeneză.

Pînă în prezent, hiperalfalipoproteinemia nu este descrisă ca o entitate nosologică, nefiind inclusă nici în clasificarea OMS. În capitolul V am propus etichetarea ei în grupul HLP cu tip neclasificabil, aceasta ca o soluție cu totul temporară.

Incertitudinile existente, fără îndoială pe cale de rezolvare, ne-au determinat să optăm pentru o prezentare rezumativă a acestei forme de HLP.

Scanned with OKEN Scanner

VII. HIPERLIPIDEMII HIPERLIPOPROTEINEMII SECUNDARE

VII.1. INTRODUCERE. CADRUL NOSOLOGIC

HL—HLP secundare constituie un grup eterogen a cărui frecvență reală este încă necunoscută. Tabloul clinic este dominat de boala de bază. Din punct de vedere patogenetic se ridică întrebarea dacă nu cumva și aici este vorba de o tulburare latentă a controlului poligenomic al metabolismului lipidic și lipoproteinic, care se validează în HLP în momentul sumării noilor condiții patogenice ale bolii de bază.

Importanța HL—HLP secundare rezultă în special din potențialul lor aterogen cert. Nu este vorba de bolile acute în care episodul HL—HLP, fiind de scurtă durată, nu constituie un factor de risc vascular, ci de bolile cronice în care afectarea aparatului cardiovascular este o realitate.

Datorită acestor două elemente patogenice, HL—HLP secundare prezintă și importanța ateroprofilactică, ele fiind punctul de plecare al unor viitoare acțiuni de investigare vizînd membrii familiei bolnavului

VII.2. HIPERLIPIDEMII— HIPERLIPOPROTEINEMII ÎN BOLI ENDOCRINE

VII.2.1. HIPOTIROIDISMUL

HL—HLP în hipotiroidism sau mixedem este cunoscută de mult, hipercolesterolemia făcînd chiar parte din tabloul biochimic al bolii. Cercetări mai noi atestă faptul că metabolismul trigliceridelor este și el tulburat în această boală, astfel încît tipurile de HLP pe care le putem evidenția sînt : II a (frecvent), II b și IV (mai rar). Menționăm faptul că atît hipercolesterolemia, cît și hipertrigliceridemia sînt moderate (3).

Aspectul clinic este dominat de boala de bază (3,6), pe fondul căreia pot să apară xantelasme sau xantoame eruptive (3). Afectarea aparatului cardiovascular este constantă (7—11).

Scanned with OKEN Scanner

Mecanismul de producere al HL—HLP este complex (fig. VII.1). Deficitul hormonilor tiroidieni nu afectează secvența „input" din metabolismul VLDL sau LDL și nici transformarea VLDL în LDL (6). Secvența „output" a ambelor lipoproteine este tulburată. Astfel, scăderea activității LPL de la nivelul țesutului adipos induce acumularea TG—VLDL și anomalii cinetice, atît ale trigliceridelor endogene, cît și exogene (7). Eliminarea

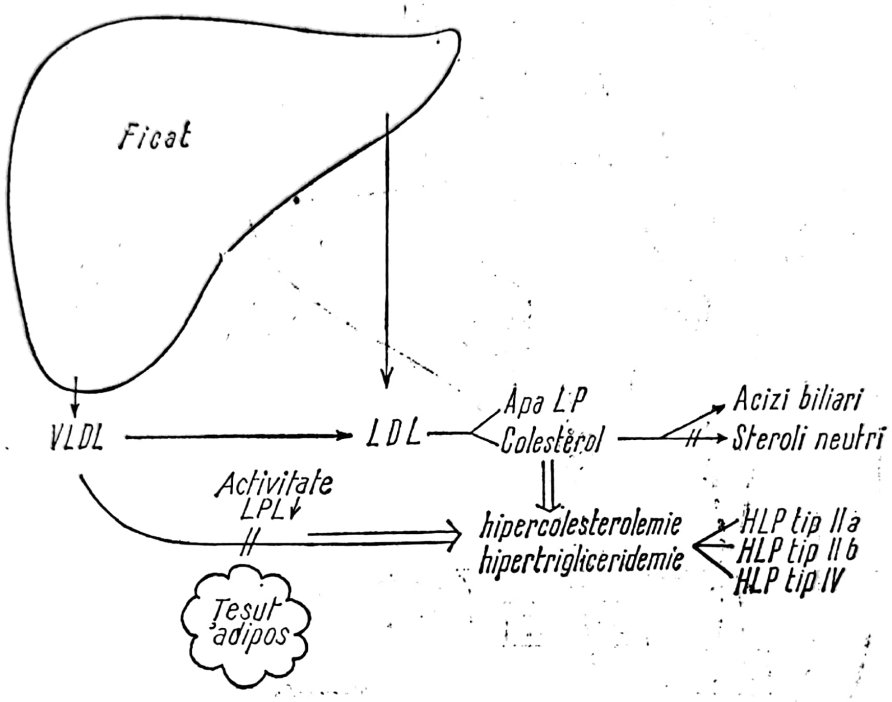


Fig. VII.1. — **Mecanismul de producere a hiperlipoproteinemiei în hipotiroidism (LPL : lipoproteinlipază).**

colesterolului sub forma sterolilor neutri este mult redusă (8). Rezultă acumularea în procente variate a celor două lipoproteine în ser sub forma HLP II a, II b, III și IV. Deși concentrația AGL este scăzută, ca urmare a hipolipolizei de la nivelul țesutului adipos, aceasta nu afectează sinteza TG—VLDL hepatice (7). Scăderea lipolizei este consecința scăderii sensibilității țesutului adipos la hormonii lipolitici (7, 9—11).

VII.2.2. HIPERTIROIDISMUL

Acțiunea lipolitică a hormonilor tiroidieni este cunoscută de mulți ani, dar hipertiroidismul nu a fost invocat între condițiile hiperlipidemiante decît în ultimii ani, cînd Nikkila și Kekki (7) demonstrează în această boală anomalii certe ale metabolismului trigliceridelor endogene și exogene, validate în hipertrigliceridemie moderată (HLP tip IV).

Mecanismul patogenic al HLP tip IV în hipertiroidism este complex (fig. VII.2). Este vorba de creșterea concomitentă, dar inegală a secvențelor „input" și „output" a metabolismului trigliceridic (12). Creșterea sec-

venței „input' se datorește creșterii sintezei hepatice de TG—VLDL, consecutivă mai multor factori :

— hiperAGL-miei, caracteristică hipertiroidismului (13), datorită activării adenilciclazei de către excesul de hormoni tiroidieni ;

— acțiunii directe a hormonilor tiroidieni asupra sintezei de acizi grași în ficat (14) ;

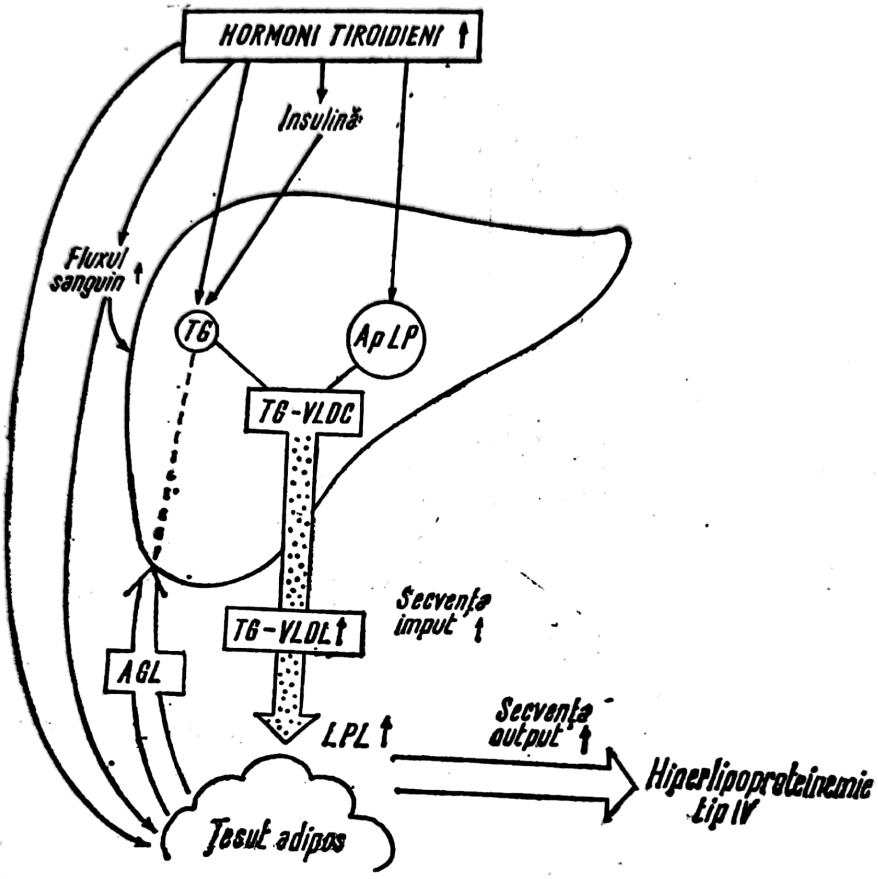


Fig. VII.2. — Mecanismul de producere a hiperlipoproteinemiei în hipertiroidism.

— hiperinsulinismului, care a fost evidențiat în hipertiroidism (15) ;

— creșterii fluxului sanguin hepatic (7) ;

— stimulării sintezei hepatice a proteinelor (și, probabil, a apoproteinelor) (16).

Creșterea secvenței „output" se datorește în special amplificării activității LPL și, probabil, creșterii fluxului sanguin la nivelul țesutului adipos (7).

Un fenomen greu explicabil în momentul de față este persistența hipertrigliceridemiei și după ameliorarea funcției tiroidiene (7).

VII.2.3. ALTE ENDOCRINOPATII

În hipopituitarismul primar sau secundar, se evidențiază frecvent HL—HLP, produsă fie prin hipertiroidism, fie prin hipocorticism (3, 17).

În hiperpituitarism este vorba de activitatea lipolitică și hiperlipidemiantă a ACTH-ului și STH-ului (3). În acromegalie, Nikkila evidențiază creșterea producției de TG—VLDL datorită hiperinsulinismului (19).

Feocromocitomul este o boală în care hiperlipoliza și hiperAGL-mia sînt constante, datorită excesului catecolaminic (3,18). Totuși, colesterolul și trigliceridele serice sînt normale (18).

Hiper- și hipocorticismul sînt însoțite de HL—HLP produse prin variația cantitativă a hormonilor corticosuprarenali.

Hiperparatiroidismul primar (5) și terțiar (consecutiv nefropatiilor cronice) (3) se pot însoți de HL. Mecanismul de producere este doar intuit. La animale, administrarea parathormonului este urmată de hipercolesterolemie, iar ablația glandei parotide produce scăderea colesterolului seric (3).

Recent, Forster, Gozariu și col. (90) apoi alți autori (91), evidențiază acțiunea lipolitică a parathormonului asupra țesutului adipos uman „in vitro". Aceasta ar putea explica unele particularități întîlnite la bolnavii cu hiperparatiroidism :

— raritatea obezității ;

— hiperlipidemia, cauzată probabil de hiperafluxul de AGL spre ficat, urmat de hipersinteză și hipersecreția de lipoproteine de la acest nivel ;

— ateroscleroza precoce.

VII.3. HIPERLIPIDEMII — HIPERLIPOPROTEINEMII ÎN BOLI RENALE

VII.3.1. SINDROMUL NEFROTIC

HL—HLP din sindromul nefrotic este cunoscută de mulți ani, fiind chiar un indicator diagnostic al bolii (3, 6, 26). În tabloul clinic, dominat de boala de bază, rareori se întîlnesc semne caracteristice HLP. Creșterea frecvenței cardiopatiei ischemice în sindromul nefrotic este totuși un element de atenționare a riscului vascular pe care HLP îl prezintă în această boală (27).

Hiperlipidemia este caracterizată prin hipertrigliceridemie, însoțită sau nu de hipercolesterolemie, rezultînd tipuri hiperlipoproteinice variate : IV, IIb , II a (6, 26) sau chiar III (26). Între gradul proteinuriei și HLP este un raport direct proporțional (26). Ameliorarea sindromului HL—HLP, concomitent cu ameliorarea bolii de bază, este caracteristică. Dacă acest fenomen nu se produce, ne găsim de fapt în fața unei HLP primare (3, 26).

Mecanismele de producere au fost elucidate în special datorită studiilor cinetice efectuate de Kekki și Nikkila (26). Finalitatea patometabolică lipoproteinică este dezechilibrul între secvențele „input" și „output" : prima fiind crescută, iar cea de-a doua scăzută (26). La aceasta se ajunge pe mai multe căi (fig. VII.3).

Creșterea sintezei hepatice de TG—VLDL sau LDL se explică fie prin stimularea sintezei aproteice în cadrul creșterii proteinosintezei, cunoscută

în sindromul nefrotic (28), fie prin amplificarea trigliceridosintezei. Aceasta la rîndul ei poate fi legată de sinteza apolipoproteinelor, sau poate fi consecința creșterii raportului AGL/albumine. Scăderea capacității de fixare a AGL/albumină ar avea printre alte consecințe și captarea acizilor grași de către particulele subcelulare hepatocitare (29), angajate apoi pe calea gliceridosintezei (26).

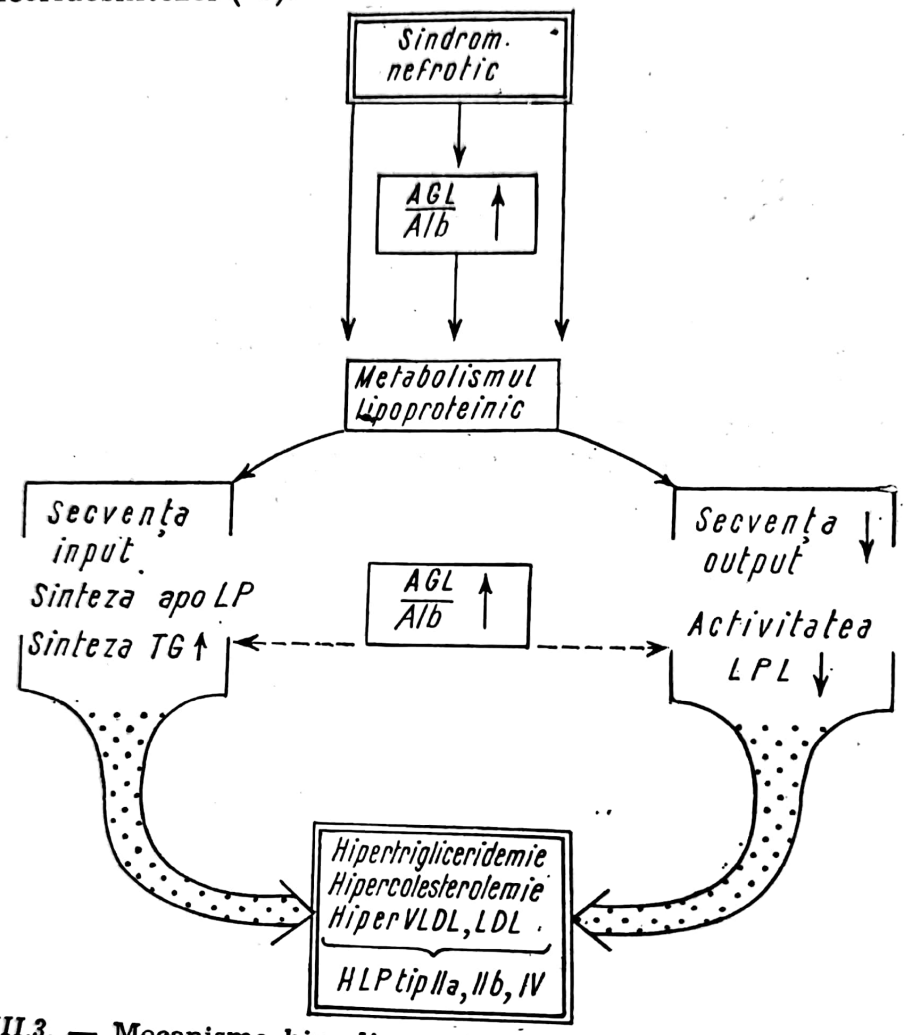


Fig. VII.3. — Mecanisme hiperlipoproteinemiante în sindromul nefrotic.

Scăderea *clearance*-ului trigliceridelor endogene se datorește scăderii activității LPL ca urmare a creșterii raportului AGL/albumine. Hipoalbuminemia, caracteristică sindromului nefrotic, determină reducerea volumului moleculelor de AGL fixate pe transportor, după eliberarea lor din trigliceridele țesutului adipos sau din TG—VLDL. Drept urmare, concentrația intraadipocitară a AGL crește (30).

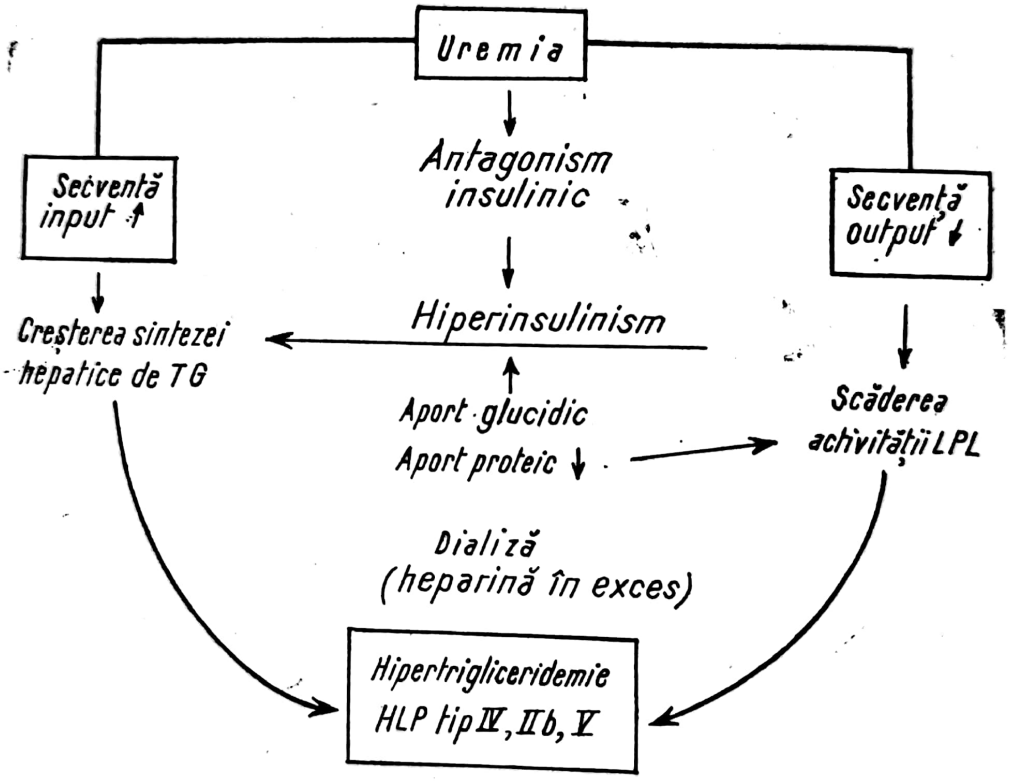
VII.3.2. INSUFICIENȚA RENALĂ ȘI UREMIA

Prima descriere a HL—HLP, în insuficiența renală cronică cu uremie, o avem din anul 1968, de la Bagdade și colab. (31—33) și Losowsky și colab. (35). Este vorba de hipertrigliceridemie moderată, încadrate de regulă în hiperlipoproteinemie tip IV, II B, III sau V (3, 5, 6, 31—35).

Mecanismul de producere a acestei forme de HL— HLP este redat în figura VII.4. În esență, este vorba de creșterea secvenței „input" a metabolismului trigliceridic, concomitent cu scăderea secvenței „output" (31—35), ambele fiind consecința următoarelor modificări metabolice din uremie :

— hiperinsulinismul, consecință a antagonismului insulinic (caracteristic uremiei), este un factor stimulator al trigliceridosintezei hepatice (TG—VLDL) ;

— scăderea activității LPL, ca urmare a antagonismului insulinic și a aportului alimentar scăzut (la bolnavii supuși dializei, datorită excesului de heparină se epuizează activitatea LPL).



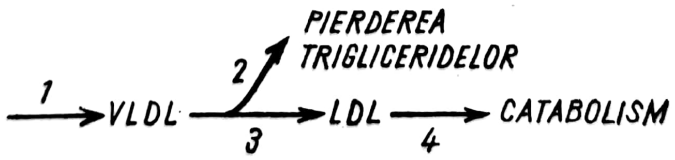


Fig. VII.4. — Mecanismul de producere a hiperlipoproteinemiei în uremie.

Hiperuricemia și scăderea toleranței la glucide nu par să influențeze apariția HL—HLP (31—34).

În insuficiența renală acută se evidențiază creșterea trigliceridelor și AGL-miei, concomitent cu scăderea colesterolului (3, 5, 35).

VII.3.3. STĂRILE POSTTRANSPLANT RENAL

Recent, în stările care urmează transplantului renal, se comunică creşterea colesterolului şi trigliceridelor serice, validate în HLP tip II A, II B, III şi IV (36). Aceasta, alături de alţi factori de risc vascular, ar explica creşterea mortalităţii prin boli cardio-vasculare la aceşti bolnavi.

Mecanismul de producere al AGL este complex. Se emit mai multe ipoteze (36) :

— hiperinsulinismul depistat în mod frecvent ar induce hipersinteza hepatică de trigliceride. La rîndul său, anomalia insulinică ar putea fi explicată prin antagonismul insulinic datorat corticoterapiei prelungite. Corticoterapia poate fi invocată în creşterea sintezei hepatice de lipoproteine alături de glucagon, a cărei concentraţie este scăzută prin corticoterapie (37). Hormonul paratiroidian, de asemenea, creşte, invocîndu-se rolul său în producerea HL-HLP.

Activitatea LPL este normală (36).

VII.4. HIPERLIPIDEMII — HIPERLIPOPROTEINEMII ÎN BOLILE HEPATOBILIARE

Bolile hepatobiliare afectează în mod curent metabolismul lipidic şi lipoproteinic, fenomen firesc deoarece ficatul îndeplineşte roluri deosebite în această direcţie.

VII.4.1. HEPATITE, CIROZE POSTNECROTICE ŞI PORTALE

În hepatitele virotice acute, hepatitele cronice, cirozele postnecrotice şi portale, metabolismul lipidic şi lipoproteinic este constant afectat, dar pe plan umoral rareori se evidenţiază HLP. Astfel, Schmitz şi colab. (22) evidenţiază hipertrigliceridemie (HLP tip IV) la 29 din cei 45 de bolnavi investigaţi cu hepatită virotică acută. Alţi autori nu constată prezenţa HL—HLP în aceste boli (21, 23). În ciroze, deşi avem uneori hiper AGL-mie (24), aceasta nu se validează în hipertrigliceridemie. De asemenea, anomaliile fosfolipidelor totale sau fracţionale din hepatita acută virotică sau hepatita cronică (25) nu sînt în măsură să constituie un factor hiperlipoproteinemiant.

O tulburare cunoscută de mult în aceste boli este scăderea esterificării colesterolului. În ultimii ani, reevaluarea interpretării semnificaţiei acestui proces aduce în discuţie scăderea activităţii LCAT (38—41), datorită următorilor factori (38) :

— existenţa unor inhibitori circulanţi ai LCAT ;
— existenţa unor lipoproteine anormale ;
— prezenţa colesterol-ester-hidrolazei circulante ;
— scăderea sintezei şi secreţiei hepatice de LCAT.

Scanned with OKEN Scanner

VII.4.2. COLEOSTAZA INTRA- ŞI EXTRAHEPATICA

Hipercolesterolemia şi hiperfosfolipidemia în bolile care evoluează cu colestază intra- şi extrahepatică sînt cunoscute de mulţi ani, făcînd parte din tabloul biologic care caracterizează sindromul bilioobstructiv. Clasificarea propusă în anul 1967, Fredrickson şi colab. (2) nu încadrează HL-HLP din aceste boli în nici unul din tipurile descrise, deoarece hiper LDL, variaţia HDL şi depistarea unei lipoproteine anormale, nu permiteau o delimitare netă. Ulterior, Alaupovic, Seidel, Furman (42, 46) izolează în serul bolnavilor cu icter mecanic o lipoproteină anormală denumită Lp-X. Pentru izolarea ei, s-a combinat ultracentrifugarea cu precipitarea cu heparină şi fracţionarea cu etanol (44).

Lp-X conţine un procent crescut de fosfolipide (65%). Aproape întreaga cantitate de colesterol este sub formă liberă. Proteinele sînt în procentaj de 6% dintre care 40% albumine, şi 60% o apoproteină specială (apo-lipoproteina X) care, din punct de vedere chimic şi imunologic, este diferită de cele descrise în cazul fracţiilor lipoproteice majore.

Această particularitate imunologică induce din partea organismului formarea de anticorpi specifici, a căror depistare constituie un test de mare fidelitate în diagnosticul diferenţial al icterului obstructiv. Într-adevăr, Lp-X a fost evidenţiată în ciroza biliară primitivă, hepatita virotică acută, hepatita acută şi cronică colostatică, obstrucţii biliare extrahepatice (43, 45, 47).

Alaupovic şi colab. (42) explică ipotetic apariţia Lp-X în colostază, printr-un defect de catabolism al apoproteinei C, datorat creşterii concentraţiei de acizi biliari consecutive obstrucţiei biliare (42).

În ultimii ani, cercetările privind HLP din colostază au abordat relaţia dintre Lp-X şi LCAT. Esterificarea colesterolului în obstrucţiile biliare este normală sau crescută, la fel ca şi activitatea LCAT (38—41). Datorită faptului că în deficitul familial de LCAT s-a evidenţiat prezenţa Lp-X (48), în prezent, se încearcă stabilirea unei relaţii între LCAT şi Lp-X, concomitent cu transpunerea ei în cadrul sindromului bilioobstructiv.

VII.5. HIPERLIPIDEMII — HIPERLIPOPROTEINEMII DE CAUZĂ IMUNOLOGICĂ

HL-HLP de natură imunologică au fost descrise relativ recent, în special de către Beaumont (49—59) şi Glueck (60, 61). Este vorba de HLP secundare unor boli de sistem, care afectează aparatul imunitar şi induc apariţia autoanticorpilor antibetalipoproteine şi antiheparinici. În felul acesta este tulburat metabolismul LDL şi al lipoproteinelor metabolizate de către LPL ; chilomicroni, VLDL şi beta-VLDL (ILDL). Complexele anticorp-antigen (LP) circulante sînt mult mai greu metabolizate, fapt

dovedit experimental (58, 63). Pe de altă parte, complexele heparină-anticorpi-antiheparinici reduc activitatea LPL ; în ambele cazuri, secvența „output" din metabolismul LDL-VLDL, beta-VLDL (ILDL) și chilomicroni este redusă. În consecință, este posibilă apariția tuturor tipurilor de HLP (62).

Bolile în care apar aceste forme de HLP sînt : lupusul eritematos diseminat, mielomul multiplu, limfosarcomatoza.

Beaumont (59) susține înalta aterogenitate a HLP autoimună, care, în concepția noastră s-ar datora și unei componente imunologice parieto-arteriale, concomitente.

VII.6. HIPERLIPIDEMII — HIPERLIPOPROTEINEMII DIN GUTĂ ȘI HIPERURICEMII

Relația dintre HLP și tulburările metabolismului acidului uric este foarte complexă putînd fi asemănată cu relația dintre HLP și metabolismul glucidic. Vom deosebi deci, multiple forme de asocieri : gută-HLP familiale, gută-HLP secundare, gută-HLP primare, HLP familiale — hiperuricemii, HLP primare-hiperuricemii (64).

În gută, se constată hipertrigliceridemie (67), ea stînd la originea scăderii toleranței la glucide. Hiperlipoproteinemia din această boală este de tip IV, apărînd cu o frecvență de 56% (68). Deși unii autori au evidențiat în gută hipercolesterolemie (în 50% din cazuri), constatarea nu este acceptată în unanimitate (69).

În hipercolesterolemii, la 1/3 din bolnavi se evidențiază hiperuricemie (69).

În HLP primare tip IV, 60% din pacienți au hiperuricemie (69).

Relația metabolismului lipidic cu metabolismul acidului uric devine mai complexă prin interferența a încă doi parametri : diabetul zaharat și obezitatea (65—66). Astfel, asociația diabet zaharat-hiperuricemie gutoasă-hiperlipoproteinemie a fost definită chiar ca un sindrom (70, 71). Pe de altă parte, în diabetul zaharat cu HLP tip IV, se evidențiază hiperuricemie (66). Obezitatea este constatată cu o frecvență crescută la gutoși, fiind considerată, alături de hipertrigliceridemie, elementul de legătură patogenică între hiperuricemie și scăderea toleranței la glucide (72, 73).

Însemnătatea relației hiperuricemie-HLP crește considerabil, întrucît hiperuricemia este considerată ca un factor de risc vascular.

Mecanismul HL-HLP în gută și hiperuricemii negutoase, sau mecanismele hiperuricemiante din HL-HLP, reprezintă un domeniu în care ipotezele abundă, fără a se putea demonstra ceva convingător pînă în prezent.

Datorită creşterii frecvenţei hiperuricemiei în cadrul asociaţiei prezentate în capitolul VI.9. (obezitate, patoalimentaţie excedentară, diabet zaharat, hiperlipidemie), este posibil ca în viitor să asistăm la o reorientare taxonomică în sensul introducerii asociaţiei HLP-hiperuricemie în grupul HL primare.

VII.7. ALTE FORME DE HIPERLIPIDEMII— HIPERLIPOPROTEINEMII SECUNDARE

În acest grup am cuprins HLP secundare mai rare, fie datorită frecvenţei reduse a bolilor de bază, fie datorită incidenţei lor scăzute în cadrul bolilor respective.

VII.7.1. HIPERLIPIDEMII — HIPERLIPOPROTEINEMII DIN GLICOGENOZE

HL—HLP se evidenţiază în glicogenozele tip I (deficit de glucozo-6-fosfatază), tip III (deficitul sistemului enzimatic de deramificare), tip IV (deficitul sistemului fosforilant) (75, 76).

În glicogenoza tip I este prezentă hipertrigliceridemia şi hiperVLDL (75, 77). Cauza acestei anomalii este legată strîns de deficitul congenital de glucozo-6-fosfatază, care blochează transformarea glucozo-6-fosfatului în glucoză liberă, facilitînd în schimb angajarea lui pe calea glicolizei. În felul acesta, asistăm la o supraproducţie de acetil CoA, care favorizează sinteza acizilor graşi şi, în continuare, a TG-VLDL (75). De remarcat că restricţia alimentară glucidică nu influenţează nivelul lipidelor şi lipoproteinelor serice (75).

În glicogenozele tip III şi IV, se observă hipercolesterolemie cu hiper LDL (75, 77). Patogenia HLP tip II, în aceste cazuri, este obscură. Se pare că hiperproducţia de lactat şi hipoglicemia constituie factori hiperlipidemianţi, dar pe căi deocamdată neelucidate. În ambele forme, lipidele alimentare saturate afectează nivelul lipidelor şi lipoproteinelor serice (75). Substituţia izocalorică a lipidelor alimentare prin zaharoză sau amidon determină ameliorarea HL-HLP (75).

VII.7.2. HIPERLIPIDEMII-HIPERLIPOPROTEINEMII DIN PORFIRII

În porfiria acută intermitentă s-a evidenţiat hipercolesterolemie cu hiperLDL, trigliceridele şi VLDL fiind în limite normale (78). Cauza anomaliilor lipidice şi hipoproteinice este necunoscută. Se presupune un defect genetic comun, care afectează concomitent sinteza LDL şi a porfirinelor la nivelul ficatului (78).

Scanned with OKEN Scanner

VII.7.3. HIPERLIPIDEMII — HIPERLIPOPROTEINEMII DIN ANAALBUMINEMII

Rarele cazuri de anaalbuminemii sînt însoțite de hipercolesterolemie și hiperfosfolipidemie (79). Mecanismul de producere este necunoscut.

VII.7.4. HIPERLIPIDEMII — HIPERLIPOPROTEINEMII DIN INFECȚII

Lipidele și lipoproteinele serice au un comportament variat în funcție de tipul infecției.

Infecțiile cu bacili gramnegativi induc creșterea trigliceridelor, AGL și VLDL (80). Acest fenomen s-ar putea explica prin modificările produse de bacili în secvențele metabolismului lipidic. S-a demonstrat creșterea lipolizei trigliceridelor din adipocit pe calea ACTH, concomitent cu depresia activității LPL.

Infecțiile cu bacili grampozitivi nu afectează nivelul lipidelor și lipoproteinelor plasmatice.

Mononucleoza infecțioasă, în primele 7 săptămîni, se caracterizează prin hiperLDL și hiperVLDL (5), care revin la normal după săptămîna a 9-a de boală.

Alte infecții virotice se caracterizează prin hipotrigliceridemie în perioada de stare și prin hipertrigliceridemie în convalescență (81). Prima modificare apare, probabil, prin consumarea trigliceridelor de rezervă în scop energogen. În convalescență ar putea interveni supraalimentația, cît și dereglarea homeostaziei energogene cu implicații asupra metabolismului lipidic (81).

VII.7.5. HIPERLIPIDEMII-HIPERLIPOPROTEINEMII DIN BOLILE MUSCULOARTICULARE

Artrozele sînt destul de frecvent întîlnite la bolnavii cu HLP familiale sau primare nefamiliale. Din acest motiv, este greu de stabilit dacă HL—HLP, evidențiată la un artrozic, este secundară sau primară. Date convingătoare asupra acestei probleme nu există, deși sînt premize teoretice care să prefigureze o relație HLP-artropatii, mai complexă decît o cunoșteam pînă acum.

Anomalii lipidice și lipoproteinice plasmatice se evidențiază și în unele boli neuromusculoarticulare mai rare.

În scleroza laterală amiotrofică, se evidențiază hiperlipidemie, hipercolesterolemie și hiperAGL-mie (82).

În distrofia miotonică, se notează hipertrigliceridemie, hipercolesterolemie, hiperAGL-mie, cauza fiind defectul de utilizare a acizilor grași cu lanț lung la nivelul țesutului muscular. Bjorntorp și colab. (84) constată la bolnavii cu distrofie miotonică scăderea celularității sistemice, hiper-

insulinism, hiperlipidemie şi scăderea toleranţei la glucide. Anomaliile sînt prezente numai la pacienţii cu activitate fizică redusă, ceea ce confirmă rolul sedentarismului ca element patogenic, hiperlipidemiant-hiperlipoproteinemiant.

VII.7.6. HIPERLIPIDEMII — HIPERLIPOPROTEINEMII ÎN BOLILE NEUROPSIHICE

În sindromul maniacodepresiv s-au descris valori crescute ale trigliceridemiei, ceea ce ar explica predispoziţia acestor bolnavi pentru ateroscleroză (5).

În boala Langdon-Down, hiperLDL a fost comunicată cu o frecvenţă crescută la copii, în timp ce la adulţi, anomalia nu este prezentă (85).

În anorexia nervoasă, hipercolesterolemia este prezentă fără a se putea explica mecanismul ei de producere (86).

Accesele de schizofrenie se însoţesc de hiperAGL-mie (87) ca urmare a hipersimpaticotoniei.

VII.7.7. HIPERLIPIDEMII-HIPERLIPOPROTEINEMII DIN BOALA ULCEROASĂ

Se comunică hipercolesterolemii în faza dureroasă a bolii ulceroase (88), explicate prin distonia vegetativă caracteristică acestei faze.

VII.7.8. HIPERLIPIDEMII-HIPERLIPOPROTEINEMII ÎN BOLILE MALIGNE

În unele boli maligne s-au evidenţiat modificări ale metabolismului lipidic intratumoral şi creşteri sau scăderi ale unor fracţii lipidice şi lipoproteinice plasmatice. Malignolipina este o lipidă nouă, izolată de Kosaki în unele tumori, în timp ce neoproteolipida este o lipoproteină serică specifică bolii canceroase (Skipski). Dacă adăugăm modificările lipidelor şi lipoproteinelor produse de iradierea organismului, în scop terapeutic sau din cadrul paraproteinemiilor ce însoţesc bolile maligne, avem o explicaţie a complexităţii problemei.

Scanned with OKEN Scanner

VIII. EPIDEMIOLOGIA HIPERLIPIDEMIILOR — HIPERLIPOPROTEINEMIILOR

VIII.1. GENERALITĂȚI

Raţiunea cercetărilor epidemiologice în stările HL-HLP este legătura lor sigură cu ateroscleroza, care prin organopatiile cunoscute este „ucigaşul nr. 1" în majoritatea ţărilor dezvoltate sau în curs de dezvoltare. Aşa se explică faptul că primele investigaţii epidemiologice în lipidologia clinică s-au efectuat în cadrul epidemiologiei cardio-vasculare. Încă din anul 1950, la prima conferinţă naţională de boli cardio-vasculare de la Washington, se subliniază importanţa acestui tip de cercetare în cardiologie. Apoi, în 1956, la Conferinţa asupra epidemiologiei aterosclerozei de la Arden, House, şi în 1959 la Princeton, cu ocazia conferinţei asupra metodologiei epidemiologiei bolilor cardio-vasculare, se precizează rolul şi importanţa cercetării epidemiologice nu numai în cardiologie, dar şi în celelalte boli netransmisibile (1).

De fapt, cercetarea epidemiologiei bolilor cardio-vasculare începe din 1948 la Framingham, urmată la scurt timp după aceea de cercetări similare asupra indienilor Navajo, populaţiei din Evans County, funcţionarilor civili din Albany, muncitorilor din San-Francisco sau populaţiei din Pitsburg.

În 1958, se iniţiază, sub egida O.M.S., un studiu prospectiv de mare anvergură „International Cooperative Study on Cardiovascular Epidemiology", care vizează grupe populaţionale alcătuite din bărbaţi, din Jugoslavia, U.S.A., Japonia, Finlanda, Italia, Olanda, Grecia, Ungaria (2—4).

Tot în deceniul al VI-lea, în U.S.A., un proiect naţional („National Cooperative Pooling Project") abordează, printr-un studiu prospectiv de mare amploare, epidemiologia cardio-vasculară.

În cursul anilor ce urmează se publică rezultatele preliminare ale diferitelor grupe de studiu.

În 1968, începe, sub egida O.M.S., un vast program pentru Europa vizînd epidemiologia şi profilaxia bolilor cardio-vasculare : „The who

heart control programme in Europe" (6). Aici sînt incluse 20 de țări printre care și R. S. România. Dintre comunicările preliminare pînă în prezent se impun cele referitoare la investigațiile din Finlanda (7) și Suedia (8).

În cadrul acestor studii, referințele asupra epidemiologiei HL-HLP ocupă o mare pondere. Paralel însă, dispunem de alte cercetări în care investigația lipidologică este preponderentă. Studiul prospectiv al lui Carlson asupra unor grupe populaționale din Stockholm („The Stockholm Prospective Study") sînt în acest sens de mare importanță (9, 10).

La noi în țară, primele cercetări de epidemiologie lipidologică în cadrul epidemiologiei aterosclerozei aparțin lui Moga și colab. (11) și Bruckner și colab. (12), încă din 1960. Mai recent, investigații similare sînt efectuate de Gonțea și colab. (13) și Mincu și colab. (14—16).

Importanța cercetărilor epidemiologice în HL-HLP trebuie privită sub dublu aspect :

1) *teoretic* deoarece ni se furnizează date etiopatogenetice extrem de importante cum ar fi frecvența bolii, rolul factorilor genetici și/sau factorilor ecologici ;

2) *practic* întrucît este o metodă de depistare a bolii, concomitent cu a altor factori de risc vascular sau a afecțiunilor cardio-vasculare. Prin aceasta, reprezintă o etapă obligatorie a profilaxiei HL—HLP, cît și a aterosclerozei.

Din aceste două considerente rezultă de fapt și obiectivul cercetării epidemiologice în lipidologia clinică : depistarea bolii, aprecierea prevalenței și incidenței ei, cît și a eventualilor factori etiogenetici.

La fel ca în cercetarea epidemiologică generală (1), și în lipidologie deosebim : cercetare prospectivă (longitudinală) și cercetare retrospectivă (crossecțională, transversală).

Din alt punct de vedere, cercetarea epidemiologică poate fi descriptivă, analitică și experimentală, în funcție de felul datelor pe care le investigăm.

Oricare ar fi tipul cercetării, ea trebuie să vizeze (1) :

— investigarea persoanelor sănătoase sau bolnave dintr-o populație numeroasă neselecționată ;

— studiul cercetărilor individuale, cît și a particularităților mediului ;

— investigarea concomitentă a mai multor factori legați de boala respectivă (factori de risc vascular în cazul nostru), sau a altor boli înrudite.

Translația în lipidologia clinică a experienței din diabetologie ne obligă la unele considerații primare care trebuie să preceadă cercetarea propriu-zisă. Este vorba de „cei trei C", descriși de Campbell (17) ;

1) capacitatea (evaluarea rapidă a capacității echipei de a investiga grupul populațional) ;

2) costul (estimarea materială a costului cercetării epidemiologice) ;

3) criteriile de diagnostic necesare analizei și sintezei datelor.

Etapele cercetării epidemiologice sînt următoarele („trepiedul epidemiologic") (17) :

— pregătirea acțiunii ;

— efectuarea cercetării propiu-zise ;

— evaluarea datelor.

Primele două etape necesită multă competență, energie, seriozitate și, mai ales, eliminarea factorilor antiepidemiologici (17), dintre care menționăm pregătirea deficitară a populației. Evaluarea datelor presupune prezența personalului calificat (biostaticieni, matematicieni, economiști).

În cele ce urmează vom descrie :

— metodologia cercetării epidemiologice în lipidologie ;

— aprecierea „normalului" și a „patologicului" în lipidologie ;

— date epidemiologice privind lipidele și lipoproteinele serice la subiecții normali ;

— date epidemiologice privind stările HL-HLP ;

— date epidemiologice privind HL-HLP ca factori de risc vasculari ;

— istoria naturală a stărilor HL-HLP.

VIII.2. METODOLOGIA CERCETĂRII EPIDEMIOLOGICE ÎN LIPIDOLOGIE

Metoda pe care am aplicat-o în studiul epidemiologiei stărilor HL-HLP s-a axat pe principiile enunțate anterior.

1. *Pregătirea acțiunii* a constat din :

— stabilirea obiectivului (investigarea comportamentului lipidic și lipoproteinic în populația generală a unui sector din capitală, corelativ cu unii factori de importanță etiopatogenetică) ;

— pregătirea echipei de cercetare, prin stabilirea criteriilor și a metodelor de observație clinică și paraclinică ;

— pregătirea populației, cu ajutorul asistentelor medicale care în prealabil au fost instruite în acest sens. Acest moment s-a referit în special la indicații asupra păstrării obiceiurilor alimentare, a regimului de activitate fizică și a eventualului consum de medicamente. Pregătirea populației trebuie începută cu 2—4 săptămîni înaintea fazei de II-a.

2. *Efectuarea cercetării propriu-zise* a constat din investigarea clinică și paraclinică a subiecților care se prezentau la ambulatoriul clinicii. Investigațiile privind lipidele și lipoproteinele serice au cuprins determinarea colesterolemiei, trigliceridemiei, lipidemiei, lipoproteinemiei (lipidograma

în gel de agar, cantificarea lipoproteinelor şi tipizarea lor). În aprecierea stării aparatului cardio-vascular s-au utilizat criteriile O.M.S.

Prima parte a acestei etape s-a desfăşurat în anul 1970, cu care ocazie s-a investigat 84,52% din populaţia adultă neselecţionată. Dintre aceştia, 44% au fost rechemaţi în cursul anului 1971, pentru repetarea investigaţiilor, deoarece cel puţin unul din parametrii studiaţi erau anormali. De data aceasta, indicaţiile adresate celor chemaţi au fost mai complete, menţionîndu-se şi păstrarea unei greutăţi constante (± 2 kg în 14 zile), ultima masă să conţină grăsimi în cantitate moderată şi să fie luată cu 12—14 ore înaintea explorării. Recoltările de sînge s-au făcut numai după confirmarea din partea subiecţilor a respectării indicaţiilor primite. De data aceasta, în unele cazuri s-a utilizat şi ultracentrifugarea preparativă.

În cazurile în care diagnosticul tipului de HL nu a fost posibil nici acum, bolnavul a fost rechemat pentru încă una sau două determinări la interval de 2 luni, astfel încît încadrarea tipologică a avut la bază 2—4 etape de investigaţie. Concomitent s-au început explorările care vizau familia bolnavului, conform principiilor expuse anterior.

Fiecare bolnav cu diagnosticul de HLP a fost dispensarizat, avînd în vedere caracterul prospectiv al cercetării, prin aceasta înţelegînd atît profilaxia secundară şi terţiară a HLP, cît şi profilaxia primară a HLP şi a aterosclerozei.

3. *Evaluarea rezultatelor* a cuprins diagnosticarea tipurilor de HLP (fiind deci intricată cu etapa a doua) şi prelucrarea statistică a rezultatelor, operaţie efectuată de către biostatisticieni.

VIII.3. APRECIEREA „NORMALULUI“ ŞI „PATOLOGICULUI“ ÎN LIPIDOLOGIA CLINICĂ

În lipidologia clinică, definirea „normalului“ este de o importanţă deosebită, iar eforturile care se fac astăzi pentru determinarea valorilor normale certe ale colesterolemiei, trigliceridelor şi lipoproteinelor serice, sînt considerabile.

În concordanţă cu conceptul modern asupra termenilor de „normal“ şi „patologic“, expuse pe larg într-o recentă monografie (20), considerăm că în lipidologia clinică problema trebuie abordată, astfel :

— în practica clinică, diagnosticul de HL-HLP se bazează pe raportarea parametrilor bolnavului respectiv, la valorile „normale“ cunoscute (grup martor). Este vorba deci de o abordare clinico-individuală ;

— în studiile teoretice, cercetătorul operează cu date prelucrate statistic, fiind vorba, deci, de o abordare statistico-colectivă.

Relaţia dintre aceste două aspecte trebuie privită în felul următor :

— valorile normale şi patologice, utilizate în clinică în scop diagnostic, sînt de fapt rezultanta unor studii epidemiologice prelucrate statistic. Interpretarea lor este particularizată la bolnavul respectiv ;

— în interpretarea valorilor individuale nu trebuie să le suprapunem „stricto sensu" peste datele statistice. Trebuie efectuată corelaţia cu contextul clinic dat.

În sprijinul acestei orientări se aduc următoarele argumente :

— lipidele şi lipoproteinele serice la populaţia sănătoasă sau aparent sănătoasă prezintă o scară largă de repartiţie distribuţie uni/sau bimodală ;

— din acest motiv, curbele lor de dispersie caracteristice populaţiei sănătoase se întretaie cu cele ce aparţin bolnavilor cu diagnosticul de HL-HLP.

Un grad de dificultate la rezolvarea problemei este adus şi de către definirea populaţiei sănătoase sau aparent sănătoase (termenul de aparent sănătos reflectă tocmai nesiguranţa conţinutului noţiunii, ca o consecinţă a incertitudinii parametrilor săi definitorii). Considerăm că populaţia sănătoasă ar fi alcătuită din acel grup, format din subiecţi normoponderali, fără anomalii clinico-biologice decelabile prin mijloacele curente de diagnostic şi fără antecedente eredocolaterale de boli cardio-vasculare sau metabolice (diabet zaharat, gută, obezitate, HL-HLP). Totuşi, şi acest grup este influenţat de o serie de factori epidemiologici cum sînt : vîrsta, sexul. alimentaţia, greutatea ponderală, profesia, repartiţia geografică etc. Valorile lipidelor şi lipoproteinelor serice aparţinînd acestui grup, interpretate în corelaţie cu aceşti factori epidemiologici, sînt considerate normale. Această afirmaţie va putea fi considerată certă, şi superpozabilă celei fiziologice, în momentul în care un studiu prospectiv de cel puţin 10—15 ani va dovedi că valorile respective nu constituie un factor de risc vascular. Această idee este susţinută şi de alţi autori (112).

Faptul că valorile normale ale lipidelor şi lipoproteinelor serice depind de factori aşa de numeroşi, determină apariţia unor fenomene cunoscute, ca : variaţia lor intraindividuală, interindividuală, intergrup sau interpopulaţională.

În virtutea consideraţiilor teoretice expuse pînă acum, ne apare ca firească variaţia valorilor considerate ca normale în cazul colesterolemiei şi trigliceridemiei, comunicate de diferiţi autori (tabelul VIII.1 şi VIII.2).

În tabelul VIII.3 şi VIII.4 redăm valorile colesterolului, trigliceridelor şi lipoproteinelor serice la grupul nostru de subiecţi consideraţi

Tabelul VIII.1

Sinteza unor date din literatură asupra valorilor normale ale colesterolemiei (modificat după Kler şi Ditschuneit – 21)

Autorii	Teritoriul de distribuţie geografică	Bărbaţi		Femei	
		20–29 ani	50–59 ani	20–29 ani	50–59 ani
Fredrickson şi colab.	Washington	183	240	179	251
Kannel	Framingham	214	236	195	266
Wood şi colab.	California	177	218	181	231
Lewis şi colab.	California	188	245	190	270
Patterson şi Slack	Anglia	193	240	192	263
Dyerberg şi Hjörne	Danemarca	200	305	220	338
Carlson şi Lindstedt	Suedia	150	275	225	325
Braunsteiner şi colab.	Austria	230	237	206	258
Klemen S şi colab.	R.F.G.	180	205	180	220
Mathur şi colab.	India	159	188	—	—
Goldrick şi colab.	Noua Guinee	150	150	170	150
Bang şi Dyerberg	Grönlanda	—	247	—	240
Keys şi Kimura	Japonia	—	144	—	—
Man şi colab.	Kenia (Massai)	122	130	—	—

Tabelul VIII.2.

Sinteza unor date din literatură asupra valorilor normale ale triglicéridemiei (mg %) (modificat după Klör şi Ditschuneit – 21)

Autori	Teritoriul de distribuţie geografică	Bărbaţi		Femei	
		20–29 ani	50–59 ani	20–29 ani	50–59 ani
Fredrickson şi colab.	Washington	73	104	62	83
Wood şi colab.	California	112	154	91	129
Patterson şi Slack	Anglia	96	124	68	101
Dyerberg şi Hjörne	Danemarca	67	100	100	120
Carlson şi Lindstedt	Suedia	120	140	95	112
Braunsteiner şi colab.	Austria	112	105	93	99
Klemens şi colab.	R. F. G.	80	120	90	110
Christensen şi colab.	Danemarca	90	104	67	90
Goldrick şi colab.	Noua Guinee	140	130	150	160
Bang şi Dyerberg	Grönlanda	—	54	—	50
Keys şi Kimura	Japonia	—	107	—	11

sănătoşi. Pentru comparare, în tabelul VIII.5 se redau valorile obţinute de Fredrickson şi colab. la un grup populaţional din S.U.A. (22).

În concluzie, în lipidologia clinică valoarea normală a lipidelor şi lipoproteinelor serice trebuie privită atît clinico-individual, cît şi statistico-colectiv. Între cele două aspecte există o strînsă legătură, dar şi unele deosebiri. Din acest motiv considerăm că datele statistice au o valoare orientativă generală, în cazul particularizării unui caz clinic dat.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul VIII.3

Concentrația colesterolemiei și trigliceridemiei (mg %) la subiecți normali

Vîrsta	B	$\bar{X}$		Disp.		F	$\bar{X}$		Disp		B + F	$\bar{X}$		Disp.	
		Col.	TG	Col.	TG		Col	Tg	Col	TG		Col.	TG	Col.	TG
0—19*	30	165±8	63±7,3	42±5	50±3	23	170±6	61±8	48±2	38±4	53	168±6	62±5	45±3	39±3
20—29	28	178±9	78±6,6	48±5	35±3	33	186±7	74±6	41±3	32±3	61	182±8	76±4	45±3	33±2
30—39	42	191±6	90±6,6	40±3	43±2	49	190±6	82±6	40±1	40±3	91	191±6	86±4	40±2	42±2
40—49	40	235±8	120±6,3	49±4	40±2	58	215±6	110±4	44±2	30±2	98	225±7	115±3	46±4	35±1
50—59	44	240±8	127±7,5	50±4	50±4	50	230±7	123±6	52±4	42±2	94	235±8	125±3	51±4	46±2
>60	17	128±28	135±12	54±12	52±4	15	255±13	130±12	45±3	48±7	32	251±8	133±9	78±6	50±4
Total	201	210±4	102±7	57±2	43±3	228	207±3	96±3	45±5	38±3	429	208±2	100±2	51±4	41±7

* nou-născuții nu sînt cuprinși în acest grup

$\bar{X}$ — media aritmetică

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul VIII.4

Concentraţia lipoproteinelor plasmatice la subiecţii normali

Vîrsta (ani)	Sex	Număr caz	Colesterol în VLDL (mg %)	Colesterol în LDL (mg %)	Colesterol în HDL (mg %)
0–19*	bărbaţi	30	11,3±8	97±22	48±9
	femei	23	11,65±8	100±26	52±10
	bărbaţi + femei	53	11,52±8	98,5±24	50±9,5
20–29	bărbaţi	28	16,0±8,9	113,0±26	48,4±10
	femei	33	15,5±11,6	116,6±22	57,0±12
	bărbaţi + femei	61	16,25±10,25	112,3±24	52,7±11
30–39	bărbaţi	42	17,7±6,8	121±30	43,0±12
	femei	49	14,0±12	110±26	53,0±14
	bărbaţi + femei	91	15,85±9,4	115,5±28	48,0±13
40–49	bărbaţi	40	23,0±12	148,3±25	50,1±20
	femei	58	16,24±7,6	123,3±27	62,0±24
	bărbaţi + femei	98	19,62±9,8	135,8±26	56,05±22
50–59	bărbaţi	44	24,48±7	152±28	41,14±18
	femei	50	24,40±6,5	157±30	46,00±20
	bărbaţi + femei	94	24,44±6,75	154,5±29	43,57±19
>60	bărbaţi	17	28,0±13	159±29	37,4±20
	femei	15	26,0±15	183±32	40,4±22
	bărbaţi + femei	32	27,0±14	171±30,5	38,9±21

* nou-născuţii nu sînt cuprinşi în acest grup

Tabelul VIII.5

Concentrația lipoproteinelor serice la subiecții normali (după Fredrickson — 22)

Vîrsta (ani)	Sex	Colesterol VLDL (mg %)	Colesterol LDL (mg %)	Colesterol HDL (mg %)	Nr. subiecților
0—19*	B	12± 8	103±29	51±13	72
	F	12± 8	103±25	54±18	71
	B + F	12± 8	103±27	52±13	143
20—29	B	16± 9	115±24	49±11	47
	F	16±12	108±33	56±13	41
	B + F	16±10	112±29	52±12	88
30—39	B	19± 8	130±32	46±11	38
	F	15±11	119±34	57±17	29
	B + F	17± 9	126±33	51±15	67
40±49	B	22±13	142±27	48±13	25
	F	17± 8	129±32	65±14	34
	B + F	19±11	134±30	58±16	59
50—59	B	25± 7	156±28	42± 8	14
	F	26±16	167±32	49±13	10
	B + F	25±11	161±30	45±11	24

* nou-născuții nu sînt cuprinși în acest grup

VIII.4. DATE EPIDEMIOLOGICE PRIVIND LIPIDELE ȘI LIPOPROTEINELE SERICE LA SUBIECȚII NORMALI

În determinismul concentrației lipidelor și lipoproteinelor serice intervin mulți factori (fig. III.37). Cercetările epidemiologice au demonstrat importanța lor atît în cazul subiecților normali, cît și la bolnavii cu HL—HLP.

VIII.4.1. VÎRSTA ȘI SEXUL

În determinismul concentrației lipidelor și lipoproteinelor serice vîrstei și sexului asupra lipidelor și lipoproteinelor serice (9, 15, 16, 19, 21, 22).

Colesterolemia. La naștere, valorile colesterolemiei sînt foarte scăzute : aproximativ 91 mg% în cercetarea noastră (tabelul VIII.6) și între 50 și 80 mg% după alți autori (23, 24, 29). După prima săptămînă de viață, valorile cresc pînă la aproximativ 150—160 mg%, menținîndu-se așa pînă în jurul vîrstei de 20 de ani. Urmează o creștere progresivă proporțională cu decada de vîrstă, valorile maxime fiind obținute atît la

bărbaţi, cît şi la femei în decada a VII-a (tabelul VIII.3). În decadele IV, V şi VI, bărbaţii au o colesterolemie mai mare decît femeile, raportul fiind invers în decadele I, II, III şi VII.

Tabelul VIII.6

Valorile lipidelor şi lipoproteinelor în sîngele ombilical recoltat de la 75 nou-născuţi la termen, normoponderali fără antecedente eredo-colaterale de hiperlipoproteinemie, obezitate sau diabet zaharat. Proporţia sexelor este aproximativ egală. Întrucît calculul defalcat pe sexe nu a arătat, practic, nici o diferenţă, redăm media globală a valorilor

Lipide şi lipoproteine	$\bar{X}$	ES ±	DS
Colesterolemie (mg%)	91	3,7	32
Trigliceridemie (mg%)	69,8	3,63	31,4
Colesterol LDL (mg%)	63,9	0,75	6,51
Colesterol VLDL (mg%)	13,4	0,94	8,21
Colesterol HDL (mg%)	22,7	1,03	8,92

$\bar{X}$ = media aritmetică
ES = eroarea standard
DS = deviaţia standard

Trigliceridemia. La naştere, valorile sînt foarte scăzute (aproximativ 70 mg% în cercetarea noastră, cifră care concordă cu rezultatele lui Tsang şi colab.) (30). Totuşi, media primelor două decade de viaţă (62 mg%) este sub această valoare (tabelul VIII.3). Alţi autori (24, 29) evidenţiază la naştere valori mai mici : 20—40 mg%. După vîrsta de 20 de ani, trigliceridemia creşte progresiv cu vîrsta, atingînd valori maxime în decada a VII-a, atît la bărbaţi, cît şi la femei. Totuşi în fiecare decadă la bărbaţi se înregistrează valori mai mari decît la femei. La concluzii asemănătoare, ca semnificaţie, ajung şi alţi autori (9, 21, 22, 26, 27).

Lipoproteinemia. Cel mai complet studiu asupra concentraţiei serice a fracţiilor majore lipoproteinice la subiecţi normali aparţine lui Fredrickson şi colab. (28). Analizînd aceste rezultate (tabelul VIII.5), concomitent cu propriile noastre investigaţii (tabelele VIII.4 şi VIII.6) rezultă că :

— la naştere, LDL şi HDL au valori foarte scăzute, spre deosebire de VLDL care au o concentraţie mai mare decît media primelor două decade de viaţă (care nu cuprinde grupul nou-născuţilor). Comparativ cu rezultatele noastre, Fredrickson (28) comunică valori mult mai mici pentru VLDL şi LDL, dar mai mari în cazul HDL. Nu se semnalează diferenţe de sex ;

— începînd cu grupa de vîrstă 0—19 ani, se remarcă o creştere a concentraţiei serice a tuturor fracţiilor lipoproteice ; valorile cele mai

mari fiind înregistrate în decada a VII-a de viaţă. În cazul LDL şi VLDL nu se depistează diferenţe importante în funcţie de sex, fenomen care se remarcă numai la HDL, în special în decada a V-a de viaţă, cînd femeile prezintă un plus de 12 mg faţă de bărbaţi.

Am redat aceste aspecte deoarece ni s-au părut mai concludente. Aşa cum se va vedea în continuare, în lipidologie este greu de atribuit calificativul de perfect vreunui studiu epidemiologic. Probabil că acele cazuri posibile de critici mai numeroase furnizează şi rezultate mai discordante, deşi explicaţia nu este întru totul satisfăcătoare. Aşa, de exemplu, este posibil ca în viitoarele investigaţii să defalcăm mai riguros grupele de vîrstă. Este ceea ce a încercat Dyerberg şi Hjörne (31), la subiecţi de vîrstă între 6 şi 20 de ani (care în investigaţiile clasice sînt cuprinşi în grupul 0—19 ani). Se demonstrează pe această cale, că din punctul de vedere al comportării lipidelor şi lipoproteinelor serice „maturizarea" are loc la băieţi între 16 şi 20 de ani, iar la fete după 20 de ani. Pînă la vîrsta de 16 ani, nu sînt diferenţe în funcţie de sex. Avînd în vedere faptul că numărul adipocitelor se stabilizează în jurul vîrstei de 23 de ani, ar fi utilă defalcarea şi a decadei 20—29 de ani. Aceeaşi necesitate apare la femei în decada 40—49 de ani, datorită menopauzei, iar la bărbaţi în perioada 50—65 de ani, datorită andropauzei.

VIII.4.2. ALIMENTAŢIA

Alături de vîrstă şi sex, dar mai mult decît acestea, alimentaţia influenţează considerabil nivelul lipidelor şi lipoproteinelor serice (32). În capitolul III, am expus substratul metabolic al acestui fenomen. În continuare vom demonstra cu argumente de ordin epidemiologic relaţia alimentaţie-lipide şi lipoproteine serice.

Colesterolemia. În figura VIII.1 este ilustrată relaţia dintre consumul de grăsimi şi colesterolemie. Se remarcă creşterea colesterolului proporţională cu cantitatea de grăsimi consumată. Fenomenul este însă mult mai complex. Astfel, s-a demonstrat epidemiologic, că aportul crescut de grăsimi bogate în acizi graşi polinesaturaţi are drept consecinţă o colesterolemie scăzută, aşa cum este cazul populaţiei tribului Massai (34). La polul opus se situează eschimoşii, care, consumînd în cantitate mare grăsimi bogate în acizi graşi saturaţi şi colesterol au o colesterolemie crescută (35). La noi în ţară, colectivul condus de Moga (36) a demonstrat

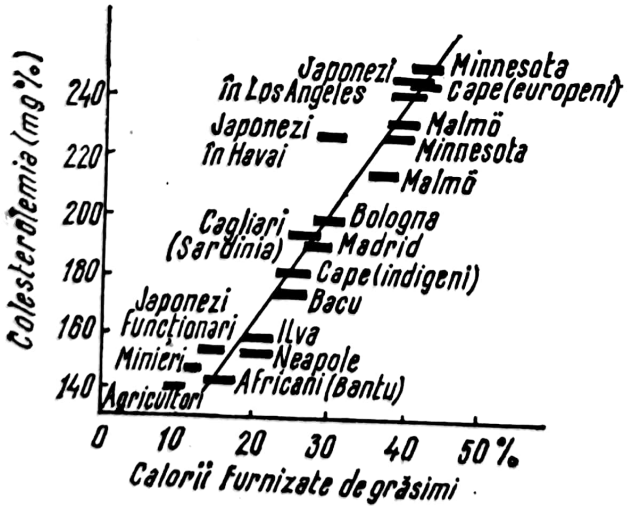


Fig. VIII.1. — Relaţia dintre consumul de grăsimi şi colesterolemie; sinteză a datelor din literatură (după Gonţea 33).

creşterile colesterolemiei în funcţie de aportul lipidic alimentar. Totuşi, în cadrul altui studiu, corelaţia dintre colesterol şi tipul acizilor graşi din alimentaţia lipidică nu a fost evidenţiată în sensul prezentat mai sus (12), fenomenul fiind explicat prin faptul că prin sumarea mai multor factori epidemiologici (activitatea fizică în cazul cercetării menţionate) efectul alimentaţiei poate fi anulat.

Recent, s-au demonstrat valori foarte scăzute ale colesterolemiei la subiecţi vegetarieni (38).

Trigliceridemia. Acest parametru este influenţat în special de consumul de glucide, sub forma zaharurilor rafinate sau suprarafinate (21, 32). În ţări unde acest consum este crescut (India, Japonia, Noua Guinee) se evidenţiază valorile cele mai mari ale trigliceridelor (39), în timp ce la eschimoşi, care au un consum glucidic minim, trigliceridemia este foarte scăzută (35). Fenomenul este constatat şi la vegetarieni unde aportul glucidic este aproape nul (37).

Lipoproteinemia. Studii epidemiologice de anvergură asupra relaţiei alimentaţie-lipoproteinemie la subiecţi normali lipsesc. Unele cercetări, pe grupe reduse numeric, demonstrează :

— nivelul scăzut al tuturor fracţiilor lipoproteice la vegetarieni (38) ;

— scăderea concentraţiei lipoproteinelor la eschimoşii din Gröenlanda de Vest, care au un consum crescut de lipide şi proteine comparativ cu eschimoşi din Danemarca care ingeră şi glucide (35) ;

— scăderea concentraţiei tuturor fracţiilor lipoproteice, în comparaţie cu populaţia generală, la un grup de tineri recruţi americani la care alimentaţia era normo-calorică, normo-lipidică şi normo-glucidică (40).

Aceste date nu permit concluzii epidemiologice ferme.

VIII.4.3. ACTIVITATEA FIZICĂ

În capitolul II şi X se discută căile prin care hiper- sau hipocinematoza influenţează metabolismul lipidic şi lipoproteinic şi, prin aceasta, nivelul lor seric. Date epidemiologice (9, 41) atestă faptul că la grupul de bărbaţi a căror activitate fizică este crescută, concentraţia colesterolului şi trigliceridelor este cu 10 şi respectiv 25% mai scăzută decît la grupul de bărbaţi cu activitate fizică moderată ; acest fenomen nu s-a semnalat la femei (9).

VIII.4.4. PROFESIA, GRADUL DE CULTURĂ ŞI EDUCAŢIE

Profesia, „per se", nu influenţează lipidele şi lipoproteinele serice, ci doar prin intermediul alimentaţiei, activităţii fizice şi a altor factori a căror pondere este mai mult sau mai puţin pregnantă într-o anumită profesiune. Astfel se cunoaşte nivelul mai crescut al lipidelor şi lipoproteinelor serice la profesiunile caracterizate prin muncă încordată, seden-

tarism şi/sau patoalimentaţie cantitativă şi calitativă, spre deosebire de grupurile profesionale la care aceşti factori lipsesc (9, 19).

Între gradul de cultură şi educaţie şi concentraţia lipidelor serice nu există corelaţii semnalate pînă în prezent.

VIII.4.5. VARIAŢIA INDIVIDUALĂ SEZONIERĂ

Cel mai complet studiu asupra acestui fenomen aparţine lui Carlson şi Lindstedt (9). Autorii demonstrează că lipidele serice nu prezintă variaţii săptămînale semnificative. Variaţia sezonieră este însă prezentă, diferenţiat pentru cele două lipide majore (9) :

— colesterolemia este mai scăzută în perioada iunie-iulie, creşte în septembrie-octombrie, rămînînd constantă din noiembrie pînă în mai ;

— trigliceridemia este mai scăzută din iulie pînă în septembrie, apoi creşte progresiv atingînd nivelul maxim în decembrie.

VIII.4.6. FUMATUL

Colesterolemia şi trigliceridemia sînt crescute la grupurile de fumători comparativ cu nefumătorii (fenomenul este valabil pentru ambele sexe) (9, 27).

VIII.4.7. FACTORUL GEOGRAFIC ŞI ETNIC

În tabelele VIII.1 şi VIII.2 se observă variaţiile colesterolemiei şi triglicerideniiei în funcţie de factorul geografic, fenomenul fiind valabil şi în cazul lipoproteinemiei (tabelul VIII.4 şi VIII.5). Factorul geografic „per se“ nu influenţează lipidele şi lipoproteinele serice, ci prin intermediul alimentaţiei, profesiunii, eventual al durităţii apei sau al unor microelemente. Fenomenul a fost semnalat şi în ţara noastră unde s-a demonstrat creşterea colesterolemiei la populaţia din Ardeal şi Banat, comparativ cu alte regiuni ale ţării (11, 12, 36). Diferenţe de concentraţii ale lipidelor serice, în funcţie de diferite grupuri etnice şi rasiale, au fost semnalate (37). În ţara noastră acest fenomen epidemiologic nu prezintă importanţă.

VIII.4.8. ALŢI FACTORI

S-a demonstrat (42) creşterea nivelului colesterolemiei la subiecţii sănătoşi cu grupa sanguină A (II), aparţinînd sistemului Le (a+) comparativ cu subiecţii de grupă O (I), B (III), sau AB (IV).

O corelaţie pozitivă între colesterolemie şi trigliceridemie şi hemoglobinemie a fost evidenţiată de Bottiger şi Carlson (43).

Cercetările epidemiologice demonstrează că determinismul lipidelor şi lipoproteinelor serice este rezultanta acţiunii constelative a mai multor factori care se pot potenţa sau anihila reciproc. Studiul lor, cu referinţă la HL—HLP, va înlesni înţelegerea fenomenului.

VIII.5. DATE EPIDEMIOLOGICE ASUPRA HIPERLIPIDEMIILOR HIPERLIPOPROTEINEMIILOR

VIII.5.1. FRECVENŢA

Frecvenţa hipercolesterolemiilor şi/sau hipertrigliceridemiilor prezintă astăzi doar un interes istoric. Redăm totuşi cîteva cercetări în acest sens.

Klor, Ditschuneit şi colab. (21), studiind 1 700 subiecţi din Ulm, evidenţiază la bărbaţi, hipertrigliceridemie în 46% din cazuri şi hipercolesterolemie în 26% din cazuri. La femei, hipertrigliceridemia a fost prezentă în 42% din cazuri, iar hiperclorestерolemia în 24% din cazuri. Schlierf şi colab. (44) au evidenţiat la 391 subiecţi selecţionaţi din Heidelberg, hipercolesterolemie şi/sau hipertrigliceridemie în 29% dintre bărbaţi şi 26% dintre femei. Klemens şi colab. (45) au pus în evidenţă, la 350 subiecţi selecţionaţi din Berlin, hipertrigliceridemie în 20% din cazuri, iar hipercolesterolemia în 12% din cazuri. Starr (46), investigînd 3 000 de şcolari din California, între 6 şi 14 ani, evidenţiază hipercolesterolemia în 6% din cazuri.

Cunoaşterea frecvenţei HLP reprezintă unul din obiectivele majore ale epidemiologiei moderne. În acest sens, rezultatele primei investigaţii de anvergură au fost publicate de Wood şi colab. în 1972 (25). Comparativ cu aceasta, cercetarea epidemiologică din cadrul Clinicii de boli de nutriţie şi metabolism din Bucureşti a fost efectuată în anii 1970—1971, şi comunică parţial între 1971—1973 (14—16).

În tabelul VIII.7 este redată frecvenţa HLP în populaţia generală, aşa cum este comunicată în principalele studii efectuate pînă acum. Ea se situează între 12,7% şi 29,4%. În interpretarea acestor valori trebuie să presupunem că unele cercetări prezintă reale neajunsuri : lipsa unei variaţii de vîrstă (cazul cercetării lui Stone — 48 şi Lorymer — 49), lipsa celor două etape de depistare (deficienţă prezentă la aproape toate cercetările).

Frecvenţa HLP, evidenţiată de noi la populaţia unui sector din Bucureşti, este de 14,29%. Cel mai frecvent este prezent tipul IV (6,95%) urmat de tipul II b (3,86%) şi tipul II a (3,24%). O frecvenţă foarte scăzută este notată în cazul HLP tip III (0,67%) şi V (0,43%). O situaţie asemănătoare este comunicată şi în celelalte studii (24, 47—49).

Pentru a demonstra necesitatea celor două etape de depistare a HLP, redăm în tabelul VIII.8 procentul de confirmări sau infirmări ale HLP, după efectuarea celui de al doilea film lipidic, în raport cu primul. Astfel,

Tabelul VIII.7

Frecvența hiperlipoproteinemiilor în populația generală; sinteză a datelor din literatură

Autorii	Număr total al subiecților investigați	Total HLP (%)	Tipuri de hiperlipoproteinemie (%)						Vîrsta subiecților	Țara
			I	II-a	II b	III	IV	V		
Wood și colab. (1972) (25)	997	12,7	0	3,7		0,2	8,6	0,2	25—79	S.U.A. (California)
Brown și colab. (1972) (47)	1 301	29,4	0	9,3		0,2	19,9	0	18—64	S.U.A. (Albany)
Stone și Dick (1973) (48)	429	20	0	30,9*	12,7*	0	52,7*	3,7*	30—69	Anglia (Leigh)
Lorimer și colab (1974) (49)	4 385	15,3	0	3,3		0	12	0	35—79	Anglia (Glasgow)
Mincu și colab, (1975) (19)	7 085	14,29	0	3,26	3,86	0,67	6,05	0,43	25—65	R. S. România București

* Cifrele reprezintă raportarea la grupul hiperlipoproteinemiilor

Tabelul VIII.8

Hiperlipoproteinemia confirmată sau infirmată printr-un al doilea film lipidic

Subiecți selectați la primul film lipidic	Număr cazuri	Infirmați prin al 2-lea film lipidic		Confirmați prin al 2-lea film lipidic	
		Nr.	%	Nr.	%
HLP sigură	795	8	1,0	787	99,0
HLP probabilă	523	329	62,9	194	37,1
HLP posibilă	407	375	92,1	32	7,9
Total	1 725	712	41,3	1 013	58,7

în 47% din cazuri, diagnosticul de HLP a fost infirmat, iar în 53% diagnosticul a fost confirmat. În același sens trebuie subliniat faptul că aprecierea reală a prevalenței trebuie să se facă prin urmărirea pe o durată de 1 an, aceasta avînd în vedere variația sezonieră a lipidelor și lipoproteinelor serice. Studiul nostru a respectat această condiție în ambele etape de depistare activă, care s-au extins pe următoarele perioade : etapa I, ianuarie 1970 — decembrie 1970 ; etapa a II-a, ianuarie 1971 — decembrie 1971.

Scanned with OKEN Scanner

În tabelul VIII.9 a, redăm prevalența finală a cazurilor de HLP în urma investigării unui grup populațional de 7 085 subiecți. Prevalența tipurilor de HLP este raportată atît la grupul populațional, cît și la grupul de HLP (global sau defalcat în funcție de sex). În tabelele VIII.9 b este analizată colesterolemia, trigliceridemia și lipoproteinemia în diferite tipuri de HLP.

Tabelul VIII.9 a

Prevalența hiperlipoproteinemiilor depistate activ prin investigarea unui grup populațional de 7 085 subiecți (ianuarie 1970 – decembrie 1971)

Tipuri de hiperlipoproteinemie	Incidența hiperlipoproteinemiilor				
	Număr de cazuri	Raportare la grupul de hiperlipoproteinemici (%)	Raportare la grupul populațional (%) (bărbați și femei 7 085 subiecți)	Raportare la grupul populațional defalcat (în funcție de sex)	
				Bărbați (Nr. %) (3 292 subiecți)	Femei (Nr. %) (3 793 subiecți)
I	0	—	—	—	—
II-a	231	22,80	3,26	83—2,52	149—3,90
II-b	274	27,04	3,86	118—3,88	156—4,11
III	48	4,73	0,67	26—0,78	22—0,58
IV	429	42,34	6,05	240—7,29	189—4,98
V	31	3,05	0,43	23—0,69	8—0,21
Total	1 013	100,0	14,29	14,88	13,78

Tabelul VIII. 9 b

Concentrația lipidelor și lipoproteinelor serice la bolnavii cu diagnosticul de hiperlipoproteinemie

Tipurile de HLP	Număr de cazuri	Colesterol seric (mg %)	Trigliceride serice mg %	TG/C	C/TG	Colesterol – lipoproteine (mg %)		
						VLDL	LDL	HDL
II a	231	289±37	123± 36	0,42	2,35	19±11	207±29	46±22
II b	274	319± 57	206± 38	0,64	1,54	41±12	223±37	44±18
III	48	312±47	346± 63	1,11	0,90	219±32	72±19	21±15
IV	429	219± 32	439± 19	1,93	0,52	74±19	107±30	42±13
V	31	306±105	1532±192	5,02	0,19	72±21	103±24	43±12

Prevalența principalelor forme etiologice de HLP este redată în tabelul VIII.10. Se remarcă preponderența HLP primare non familiale și frecvența redusă a formelor secundare. În tabelul VIII.11 sînt prezentate cauzele HLP primare nonfamiliale. Patoalimentația excedentară și/sau *stress*-ul psihic, constituie grupul major al acestor forme etiologice. Un număr

însemnat de cazuri este oferit şi de diabetul zaharat. Etiologia HLP secundare este redată în tabelul VIII.12.

Studiul nostru relevă trei afecţiuni în cadrul cărora apare HLP, hipotiroidismul, hepatopatiile colostatice şi sindromul nefrotic. Probabil că extinderea investigaţiei şi la bolnavii din staţionar ar corecta frecvenţa HLP secundare.

Tabelul VIII.10

Distribuţia cazurilor de hiperlipoproteinemie în funcţie de principalele forme etiologice

Tipul HLP	Grupul HLP	HLP primare familiale		HLP primare nonfamiliale		HLP secundare	
	Nr.	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%
II a	231	71	30,73	145	62,77	15	6,50
II b	274	78	28,45	186	67,89	10	3,66
III	48	17	35,41	29	60,42	2	4,17
IV	429	59	13,75	358	83,45	12	2,8
V	31	5	16,13	25	80,64	1	3,23
Total	1 013 cazuri	230	22,70	743	73,34	40	3,96

Tabelul VIII.11

Distribuţia hiperlipoproteinemiilor primare nonfamiliale în funcţie de etiologie

Etiologia HLP	Tipul hiperproteinemic				
	II a	II b	III	IV	V
Diabetul zaharat 46 cazuri (6,2 %)	2	7	3	29	5
Alcoolism 14 cazuri (1,88 %)	1	5	0	8	0
Pancreatită 6 cazuri (0,81 %)	0	1	0	2	3
Iatrogenă 3 cazuri (0,40 %)	1	1	0	1	0
Patoalimentaţie excedentară şi/sau obezitate 674 cazuri (90,71 %)	141	172	26	318	17
Total 743 cazuri	145 (19,52 %)	186 (25,03 %)	29 (3,90 %)	358 (48,18 %)	25 (3,37 %)

În acest grup sînt cuprinse şi cazurile în care sînt prezente sedentarismul şi/sau stresul psihic.

Tabelul VIII.12

Distribuţia hiperlipoproteinemiilor secundare, în funcţie de etiologie

Etiologia HLP	Tipul hiperlipoproteinic				
	II a	II b	III	IV	V
	Nr.	Nr.	Nr.	Nr.	Nr.
Hipotiroidism 27 cazuri (76,5%)	12	6	1	7	1
Hepatopatii colostatice 10 cazuri (25%)	1	4	1	4	0
Sindrom nefrotic 3 cazuri (7,5%)	2	0	0	1	0
Total 40 cazuri	15 (37,5%)	10 (25%)	2 (5%)	12 (30%)	1 (2,5%)

VIII.5.2. VÎRSTA ŞI SEXUL

Pentru a aprecia influenţa vîrstei şi a sexului asupra HLP redăm în tabelul VIII.13 distribuţia grupului populaţional investigat în funcţie de aceşti doi parametri, la care s-a adăugat defalcarea în funcţie de pondere. În tabelul VIII.14 este redată distribuţia cazurilor de HLP în funcţie de vîrstă, sex şi tipuri.

Tabelul VIII.13

Distribuţia grupului populaţional investigat, în funcţie de vîrstă, sex şi pondere

Decadele de vîrstă	Grupul populaţional						Total
	Bărbaţi (3 292)		Femei (3 798)		Bărbaţi şi femei (7 085)		
	NP*	SP**	NP	SP	NP	SP	
25—30	231	82	192	79	423	161	584
40—49	678	163	707	358	1 358	251	1 906
50—59	618	193	622	462	1 240	665	1 895
60—65	540	214	339	511	879	725	1 604
Total	2 541	751	2 259	1 534	4 800 (67,7%)	2 285 (32,3%)	7 085

* NP — normoponderali
** SP — supraponderali (>15% după formula Broca)

Deşi prevalenţa globală a HLP este aproximativ egală la bărbaţi (14,88%) şi la femei (13,78%), tipurile II a şi II b se întîlnesc mai frecvent la femei, în timp ce tipul IV se întîlneşte mai frecvent la bărbaţi (în 7,2% din toţi bărbaţii investigaţi faţă de numai 4,9% din toate femeile investigate) (tabelul VIII.9).

Prevalenţa HLP în raport cu vîrsta (tabelele VIII.13 şi 14) este destul de caracteristică (între 25 şi 29 de ani, numai 2,39% din indivizi au pre-

Tabelul VIII.14

Distribuţia cazurilor d hiperlipoproteinemie în funcţie de vîrstă

Decadele de vîrstă (ani)	Tipurile de hiperlipoproteinemie				
	II a	II b	III	IV	V
25—29	2 (0,86)	1 (0,86)	—	9 (2,09)	2 (6,45)
30—39	17 (7,35)	13 (4,74)	9 (18,75)	57 (13,28)	9 (29,03)
40—49	76 (32,90)	91 (33,21)	18 (37,5)	134 (31,23)	10 (32,25)
50—59	70 (30,30)	95 (34,67)	13 (27,08)	123 (28,67)	7 (22,58)
60—65	69 (29,87)	74 (27,00)	8 (16,66)	106 (24,70)	3 (9,67)
Total	231 (100 %)	274 (100 %)	48 (100 %)	429 (100 %)	31 (100 %)

zentat HLP, pentru ca între 40 şi 49 de ani, procentul celor cu HLP să crească pînă la 17,26%). După această decadă, prevalenţa HLP înregistrează mai curînd o tendinţă la scădere. Cu excepţia tipurilor III şi V, la care se observă o frecvenţă mai mare la vîrstele mai mici, celelalte tipuri (II a, II b şi IV) se întîlnesc cu frecvenţă aproximativ egală între 30 şi 39 şi 40 şi 49 de ani, pentru ca ulterior, procentele înregistrate să scadă. La rezultate asemănătoare ca semnificaţie ajung şi alţi autori (19, 25, 47—49).

VIII.5.3. GREUTATEA CORPORALĂ

Excesul ponderal (indice ponderal depăşind cu +15% greutatea ideală, calculat prin formula Broca), a fost întîlnită mai frecvent la bolnavii cu HLP (în 64,4% din cazuri), decît la populaţia generală (în 32,3% din cazuri) (tabelele VIII 13 şi 15). Procentele cele mai mari de bolnavi cu exces ponderal au fost înregistrate în tipurile V (83,87%, III (75,0%) şi IV (68,76%). Procentul cel mai mic (52,38%) a fost întîlnit în tipul II a, deşi chiar în acest caz, incidenţa excesului ponderal este mai mare decît cea întîlnită în întregul lot investigat (tabelul VIII.15). Şi alţi autori subliniază rolul supraponderei în aproape toate formele de HL şi HLP (19, 25, 47—49, 53).

Tabelul VIII.15

Distribuţia cazurilor de hiperlipoproteinemie, în funcţie de pondere

Tipurile HLP	Număr de cazuri	Normo- sau subponderali	Supraponderali
II a	231	110 (47,61)	121 (52,38)
II b	274	99 (136,13)	175 (63,68)
III	48	12 (25,00)	36 (75,00)
IV	429	134 (13,22)	295 (68,76)
V	31	5 (16,12)	26 (83,87)
Total	1 013	360 (35,53)	653 (64,46)

VIII.5.4. ALIMENTAŢIA

Cercetări epidemiologice efectuate în ultimele trei decenii au demonstrat marea influenţă a cantităţii şi calităţii alimentelor consumate asupra HL-HLP (19, 50, 51, 53).

Regimul alimentar hipercaloric (prin exces lipidic şi/sau glucidic) se însoţeşte de creşterea frecvenţei HLP aşa cum reiese şi din cercetarea noastră (tabelul VIII.16). Astfel, 74,22% din bolnavii cu HLP depistaţi se caracterizează printr-o patoalimentaţie excedentară cantitativă. La rezultatele similare ca semnificaţie ajung şi alţi autori (53).

Tabelul VIII.16

Tipul de regim alimentar la bolnavi cu HLP

Tipul de regim	Tipul HLP					
	II-a	II-b	III	IV	V	Total
Hipercaloric *	112 (48,48)	184 (67,14)	40 (82,32)	393 (91,32)	24 (77,40)	752 (74,22)
Hiperglucidic **	71 (30,73)	129 (47,08)	18 (37,30)	205 (47,78)	15 (48,38)	438 (43,23)
Hiperlipidic ***	97 (41,99)	84 (30,65)	19 (39,58)	176 (41,02)	8 (25,80)	384 (37,90)

* Consum alimentar depăşind media necesarului pentru vîrsta, sexul şi activitatea depusă. Cei mai mulţi fac parte şi din cei incluşi în categoria celor cu regim hiperglucidic sau hiperlipidic.

** Consum glucidic depăşind 60% raţia calorică

*** Consum lipidic depăşind 40% din raţia calorică

Alimentaţia bogată în lipide animale (mai mult de 25% din totalul caloriilor) ce conţin un procent ridicat de acizi graşi saturaţi (mai mult de 50%) este întîlnită mai frecvent la bolnavii cu HLP tip II a şi IV, concluzie la care ajung şi alţi autori (112). Aceasta ar corespunde în parte cu creşterea frecvenţei hipercolesterolemiei, care este demonstrată în cazul unei alimentaţii hiperlipidice (50).

Abuzul alimentar de zaharuri rafinate (adesea hipercaloric) are efect hipertrigliceridemiant, aşa cum au demonstrat cercetările de pionierat efectuate de Antonis şi Bersohn (53 b), confirmate ulterior şi de alţi autori. La noi în ţară, Gonţea şi colab. (51) demonstrează efectul hipercolesterolemiant al alimentaţiei hiperglucidice. Excesul glucidic alimentar a fost evidenţiat în cercetarea noastră mai frecvent în HLP tip V, IV şi II b (tabelul VIII.16).

VIII.5.5. REGIMUL DE ACTIVITATE FIZICĂ

Din analiza tipului de activitate fizică depusă de bolnavii cu HLP (tabelul VIII.17) se poate observa că majoritatea lor au fost încadraţi în grupa sedentarilor (64,46%) sau a celor cu activitate fizică medie (29,71%).

Tabelul VIII.17

Variația colesterolemiei și trigliceridemiei la bolnavi (31 – 45 de ani) cu diferite localizări ale aterosclerozei, comparativ cu un grup de aceeași vîrstă. (Selecție rezultată din cercetarea epidemiologică descrisă anterior)

		Martori A	Cardiopatie ischemică B	Arteriopatie periferică C	Ateroscleroză cerebrală D	Semnificație statistică
Colesterolemie (mg%)	Nr.	49	17	15	18	A – B $p < 0,01$
	$\bar{X}$	198±6	266±41,12	255±45,10	272±38,48	A – C $p < 0,01$ A – D $p < 0,01$
	E.s.	198±0,85	266± 9,98	255±11,65	272± 9,07	B – C N.S. $(0,5 > p > 0,1)$ B – D N.S. $(0,5 > p > 0,1)$ C – D N.S. $(0,5 > p > 0 \times 1)$
Trigliceridemie (mg%)	Nr.	49	17	15	18	A – B $p < 0,01$ A – C $p < 0,01$ A – D $p < 0,01$
	$\bar{X}$	91±5	105±26,61	126±22,74	134±27,15	B – C puțin semnif. $(0,05 > p > 0,02)$ B – D $p < 0,01$
	E.s.	91±0,71	105± 6,45	126± 5,87	134± 6,40	C – D N.S. $(0,5 > p > 0,1)$

Scanned with OKEN Scanner

VIII.5.6. PROFESIA

Rolul profesiei şi al factorilor prin care de fapt aceasta operează în apariţia HLP este ilustrat în aproape toate cercetările epidemiologice (19, 25, 47—49). La noi în ţară, Gonţea şi colab. (52) evidenţiază, printr-o investigaţie de mare anvergură, creşterea frecvenţei hipercolesterolemiei în cadrul profesiunilor caracterizate prin sedentarism.

VIII.5.7. ALŢI FACTORI

Demonstrarea epidemiologică a rolului altor factori în etiopatogenia HLP lipseşte. Aşa, de exemplu, deşi se cunoaşte rolul fumatului, al factorului geografic, oligoelementelor, factorul cultural, educaţional, al grupelor sanguine, pînă în prezent nu există studii de anvergură care să permită concluzii epidemiologice certe asupra acestui punct de vedere.

VIII.6. DATE EPIDEMIOLOGICE ASUPRA HIPERLIPIDEMIEI ŞI HIPERLIPOPROTEINEMIEI CA FACTORI DE RISC VASCULAR

Relaţia dintre stările HL-HLP şi ateroscleroză este demonstrată prin cercetări clinice, experimentale, histopatologice, şi epidemiologice. Considerăm necesar să prezentăm filiaţia HL-HLP-ateroscleroză, pe plan epidemiologic în cadrul factorilor de risc vascular.

Factorii de risc vascular reprezintă „una din cele mai valoroase achiziţii ale medicinei contemporane“ (53). În literatura de specialitate din ţara noastră, o recentă monografie (36) aduce un aport de o deosebită valoare la conturarea acestui important concept al cardiologiei preventive.

Unul dintre factorii de risc vascular, cu importanţa cea mai mare şi mai bine argumentată, este reprezentat de stările HL—HLP (36, 55, 56, 118, 119).

VIII.6.1. HIPERLIPIDEMIA ŞI HIPERLIPOPROTEINEMIA FACTORI DE RISC ÎN ATEROSCLEROZA CORONARIANĂ

Demonstrarea caracterului de factor de risc pentru ateroscleroza coronariană atribuită HL şi HLP a fost realizată prin studii transversale (crossecţionale) şi studii longitudinale (prospective). Acestea s-au referit la cardiopatia ischemică nedureroasă şi angină pectorală, infarctul miocardic, rudeniile bolnavilor cu infarct miocardic.

Tabelul VIII.18

Variaţia colesterolemiei şi trigliceridemiei la bolnave (46—60 de ani) cu diferite localizări ale ateroscleroze, comparativ cu un grup de martor de aceeaşi vîrstă. (Selecţie rezultată din cercetarea epidemiologică descrisă anterior)*

		Martori A	Cardiopatie ischemică B	Arteriopatie periferică C	Ateroscleroză cerebrală D	Semnificaţie statistică
Colesterolemie (mg%)	Nr	50	45	47	63	
	$\bar{X}$	255±7	365±115,82	278±53,69	274±60,32	A—B p < 0,01 A—C p < 0,01 A—D p < 0,01 B—C p < 0,01 B—D p < 0,01 C—D N.S. (0,5 > p > 0,1)
	E.s.	225±0,99	365±17,28	278± 7,83	274± 7,60	
Triglicerídemie (mg%)	Nr.	50	45	47	63	A—B N.S. (p > 0,5) A—C puţin semnific. (0,05 > p > 0,02) A—D p < 0,01 B—C N.S. (0,5 > p > 0,1) B—D p < 0,01 C—D p < 0,01
	$\bar{X}$	119±6	115±57,33	132±38,90	157±42,76	
	E.s.	119±0,84	115±8,55	132±5,67	157± 5,39	

* S-a exclus diabetul zaharat

A. CARDIOPATIA ISCHEMICĂ NEDUREROASĂ ŞI ANGINA PECTORALĂ

a. *Studii epidemiologice transversale.* Caracterul de factor de risc pentru cardiopatia ischemică atribuit hipercolesterolemiei, hipertrigliceridemiei alături de HLP, a fost demonstrat prin studii epidemiologice transversale :

1) studiul prevalenţei cardiopatiei ischemice nedureroase şi a anginei pectorale în grupul bolnavilor cu hipercolesterolemie, hipertrigliceridemie, HLP, comparativ cu subiecţi normolipemici ;

2) prevalenţa HL—HLP la bolnavii cu cardiopatie ischemică nedureroasă şi angină pectorală, comparativ cu populaţia sănătoasă ;

3) variaţia valorilor colesterolemiei, trigliceridemiei sau a spectrului lipoproteinic seric în cazul cardiopatiei ischemice nedureroase sau a populaţiei sănătoase.

În tabelele VIII.17-VIII.22. redăm variaţia colesterolemiei şi trigliceridemiei la bolnavi cu cardiopatie ischemică (nedureroasă şi dureroasă, exceptînd infarctul miocardic), arteriopatia periferică, ateroscleroza cerebrală, în diferite decade de vîrstă, comparativ cu un grup martor de aceeaşi vîrstă.

Selecţia este rezultată din cercetarea epidemiologică descrisă anterior. Se remarcă :

— prezenţa hipercolesterolemiei în cardiopatia ischemică, atît la femei, în special după 45 de ani, cît şi la bărbaţi ;

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul VIII.19

Variaţia colesterolemiei şi triglicéridemiei la bolnavi (31–40 de ani) cu diferite localizări ale aterosclerozei comparativ cu un grup martor de aceeaşi vîrstă. (Selecţie rezultată din cercetarea epidemiologică descrisă anterior) *

		Martori A	Cardiopatie ischemică B	Arteriopatie periferică C*	Ateroscleroză cerebrală D	Semnificaţie statistică
Colesterolemie (mg%)	Nr.	42	11	11	9	A–B $p < 0,01$ A–C $p < 0,01$ A–D $p < 0,01$ B–C N.S. $(05 > p > 0,1)$ B–D puţin semnif. $(0,05 > p > 0,02)$ C–D N.S. $(p > 0,5)$
	$\overline{X}$	191±6	281±49,07	257±73,23	239±14,79	
	E.s.	191±0,92	281±14,80	257±22,12	239±4,93	
Trigliceridemie (mg%)	Nr.	42	11	11	9	A–B $p < 0,01$ A–C $p < 0,01$ A–D $p < 0,01$ B–C N.S. $(p > 0,05)$ B–D puţin semnif. $(0,10 > p > 0,05)$ C–D N.S. $(0,5 > p > 0,1)$
	$\overline{X}$	90±6,63	154±55,80	171±62,32	203±54,74	
	E.s.	90±1,02	154±16,84	171±18,82	203±18,24	

* S-a exclus diabetul zaharat

Tabelul VIII.20

Variaţia colesterolemiei şi triglicéridemiei la bolnavi (41–50 de ani) cu diferite localizări ale aterosclerozei, comparativ cu un grup martor de aceeaşi vîrstă. (Selecţie rezultată din cercetarea epidemiologică descrisă anterior)

		Martori A	Cardiopatie ischemică B	Arteriopatie periferică C *	Ateroscleroză cerebrală D	Semnificaţie statistică
Colesterolemie (mg%)	Nr.	40	42	57	42	A–B $p < 0,01$ A–C N.S. $(p > 0,5)$ A–D puţin semnif. $(0,1 > p > 0,05)$ B–C $p < 0,01$ B–D $p < 0,01$ C–D N.S. $(0,50 > p > 0,10)$
	$\overline{X}$	235±8	291±54,64	239±62,13	249±44,29	
	E.s.	235±1,26	291±8,43	239±8,24	249±6,85	
Trigliceridemie (mg%)	Nr.	40	42	57	42	A–B $p < 0,01$ A–C $p < 0,01$ A–D $p < 0,01$ B–C N.S. $(0,50 > p > 0,10)$ B–D N.S. $(0,50 > p > 0,10)$ C–D $p < 0,01$
	$\overline{X}$	120±6,32	177±84,65	153±65,02	198±76,36	
	E.s.	120±1,00	177±13,06	153±8,62	198±11,78	

* S-a exclus diabetul zaharat

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul VIII.21

Variaţia colesterolemiei şi trigliceridemiei la bolnavi (51—60 de ani) cu diferite localizări ale aterosclerozei, comparativ cu un grup martor de aceeaşi vîrstă. (Selecţie rezultată din cercetarea epidemiologică descrisă anterior) *

		Martori A	Cardiopatie ischemică B	Arteriopatie periferică C	Arterioscleroză cerebrală D	Semnificaţie statistică
Colesterolemie (mg%)	Nr.	44	40	47	49	A—B $p < 0,01$ A—C N.S. $(0,5 > p > 0,1)$ A—D puţin semnif. $(0,05 > p > 0,02)$ B—C N.S. $(0,5 > p > 0,1)$ B—D N.S. $p > 0,5$ C—D N.S. $(0,5 > p > 0,1)$
	$\overline{X}$	240±8	263±42,60	251±50,44	259±55,07	
	E.s.	240±1,20	263±6,74	251±7,36	259±7,86	
Trigliceridemie (mg%)	Nr.	44	40	47	49	A—B $p < 0,01$ A—C $p < 0,01$ A—D $p < 0,01$ B—C puţin semnif. $(0,06 > p > 0,02)$ B—D $p < 0,01$ C—D N.S. $(p > 0,5)$
	$\overline{X}$	127±7,54	160±70,92	189±52,61	193±40,78	
	E.s.	127±1,13	160±11,22	189±7,68	193±5,82	

* S-a exclus diabetul zaharat

Tabelul VIII.22

Prevalenţa manifestărilor aterosclerotice la bolnavii cu diferite tipuri de hiperlipoproteinemie în funcţie de decada de vîrstă

Decada	Nr. cazuri cu HLP	II a (231)	II B (274)	III (48)	IV (429)	V (31)	Total 1 013 cazuri
25—30	14	—	—	—	1 (0,46%)	—	15 (7,14%)
30—39	102	2 (0,86%)	3 (1,09%)	—	7 (1,39%)	—	12 (11,42%)
40—49	329	15 (6,49%)	15 (5,47%)	1 (2,08%)	29 (6,75%)	1 (3,22%)	61 (18,54%)
50—59	308	21 (9,09%)	18 (6,56%)	3 (6,25%)	30 (6,99%)	3 (8,69%)	75 (24,35%)
60—65	260	20 (8,65%)	23 (8,39%)	3 (6,25%)	32 (7,45%)	2 (6,45%)	80 (30,76%)
Total	1 013	58 (25,10%)	59 (21,53%)	7 (14,58%)	99 (23,07%)	6 (19,35%)	229 (22,60%)

Scanned with OKEN Scanner

— valorile TG-serice sînt semnificativ statistic mai crescute în cardiopatia ischemică, atît la femei (pînă la 45 de ani) cît şi la bărbaţi.

În tabelul VIII.23 redăm prevalenţa manifestărilor clinice ale aterosclerozei la bolnavii cu HLP. Diferite forme clinice de ateroscleroză au fost prezente în procentaj de 22,60%, proporţia cea mai mare fiind întîlnită în HLP tip II a (25,10%) şi HLP tip IV (23,07%). O frecvenţă ridicată este menţionată şi în HLP tip II b (21,53%). Procentajul cel mai mare de ateroscleroză este consemnat în tipurile II b, III şi IV de HLP, după vîrsta de 60 de ani. În cazul HLP tip II a, frecvenţa cea mai mare a aterosclerozei este prezentă în decada a VI-a de viaţă, fenomen remarcat şi în HLP tip V.

Tabelul VIII.23

Distribuţia tipurilor de hiperlipoproteinemie în diferite forme clinice de ateroscleroză. Datele nu sînt superpozabile cu rezultatele cercetării epidemiologice întrucît este vorba de un tabel sinoptic, care cuprinde şi bolnavi internaţi în clinica de nutriţie şi boli metabolice

		Cardiopatie ischemică A	Arteriopatie periferică * B	Ateroscleroză cerebrală C	A + B + C
Tip I		—	—	—	—
II A	Nr.	52	32	29	113
	%	38, 52	21,05	17,58	25,00
II B	Nr.	41	59	38	138
	%	30,37	38,82	23,03	30,53
III	Nr.	16	37	46	99
	%	11,85	24,34	27,88	21,90
IV	Nr.	26	24	51	101
	%	19,26	15,79	30,91	22,35
V	Nr.	—	—	1	1
	%	—	—	0,60	0,22
Total		135	152	165	452

* S-a exclus diabetul zaharat

În tabelul VIII.23, redăm prevalenţa tipurilor de HLP în diferite forme clinice de ateroscleroză. În cardiopatia ischemică predomină HLP tip II a (38,52%) şi HLP tip II b (30,37%). Valori surprinzător de mici sînt înregistrate în cazul HLP tip IV (19,26%). Oricum, aceste trei tipuri de HLP au o importanţă majoră în cardiopatia ischemică.

Rezultate asemănătoare ca semnificaţie, cu cele evidenţiate în cercetarea noastră (dar cu mici diferenţe de ordin cantitativ) sînt publicate şi de alţi autori (55—61, 66, 67, 72).

În cardiopatia ischemică, Dahlen (115) a demonstrat prezenţa cu o frecvenţă crescută a prebeta-lipoproteinelor (extraprebeta-lipoproteine).

Se poate concluziona că cercetările epidemiologice transversale demonstrează caracterul de factori de risc pentru cardiopatia ischemică nedu-

Scanned with OKEN Scanner

reroasă şi angina pectorală în cazul hipercolesterolemiei şi/sau hipertrigliceridemiei. Aceasta corespunde pe alt plan cu faptul că în ateroscleroza coronariană, cele mai frecvente tipuri de HLP sînt II A, II B şi IV.

b. *Studii epidemiologice longitudinale.* Studiile epidemiologice longitudinale relevă caracterul predictiv al hipercolesterolemiei şi hipertrigliceridemiei în apariţia cardiopatiei ischemice.

Tabelul VIII.24

Riscul apariţiei ateroscleroze în funcţie de diverse grade de colesterolemie. Date comparative din diverse studii populaţionale; după Mara (36) şi Kannel (62).

Studiul	Vîrsta populaţiei	Durata studiului	Riscul apariţiei cardiopatiei ischemice în funcţie de colesterolemie, exprimat faţă de indicele 100, considerat la valoare de 200 mg % colesterolemie								
			Colesterol	200	210	220	230	240	250	260	270	280
Framingham (Dawber şi Kannel)	30—59	10		100		120		160	225		325	
Minneapolis (Keys şi colab.)	45—54	15		100		116		253	397		547	
People Gas Chicago	40—59	3		100			147		253	266		413
Western Electric	40—54	4		100			216			346		426
Los Angeles Chapman şi colab.	21—70	11		100					188			336

În tabelul VIII.24, se redă riscul apariţiei cardiopatiei ischemice în funcţie de nivelul colesterolemiei. Este evidentă creşterea riscului aterogen, corelativ cu apariţia hipercolesterolemiei. Referitor la această demonstraţie, menţionăm cercetările întreprinse de Kannel, Dawber şi colab. la Framingham (58—64), cît şi de Ancel Keys în 7 ţări din diferite părţi ale lumii (2—4, 66).

Valoarea predictivă a hipertrigliceridemiei în apariţia cardiopatiei ischemice este demonstrată de către Kannel şi colab. (58, 59, 63, 64) şi de Carlson şi Bottinger (10). Studiile de la Framingham atestă faptul că hipertrigliceridemia are valoare predictivă în apariţia cardiopatiei ischemice numai cînd este însoţită de hipercolesterolemie. Spre deosebire de aceste concluzii, Carlson, pe o cercetare efectuată la Stockholm de-a lungul a 9 ani, demonstrează caracterul predictiv atît al hipertrigliceridemiei, cît şi a hipercolesterolemiei izolate în dezvoltarea cardiopatiei ischemice. Asocierea acestor două anomalii amplifică riscul de apariţie al cardiopatiei ischemice.

Studii prospective vizînd caracterul predictiv al diferitelor tipuri de HLP în apariţia cardiopatiei ischemice sînt în curs de efectuare.

Tabelul VIII. 25

Distribuţia tipurilor de hiperlipoproteinemie la bolnavii cu infarct miocardic în antecedente (3 luni — 2 ani); sinteza datelor din literatură

Autorii	Nr. de bolnavi	Vîrsta	Sex	Tipuri de hiperlipoproteinemie (%)				
				II A	II B	III	IV	V
Patterson şi Slack 1972 (77)	108	20—79	B	14,9		0	14,9	0
	85	20—89	F	19,1		0	17,9	0
Gustafson şi colab. 1972 (869)	84	27—55	B şi F	15	4	0	12	0
Hazzard şi colab. 1973 (80)	156	44—61	B şi F	24,3	15,2	0	36,6	2,2
Nikkila şi Aro 1973 (73,38)	101	20—70	B + F	21,3	9,9	0	21,8	0
Klemens 1973 (68)	93	⩽50	B + F	15	35	0	25	0
	273	> 50		10	15	0	45	0

B. INFARCTUL MIOCARDIC

Relaţia dintre HL-HLP şi infarctul miocardic a fost demonstrată prin cercetări epidemiologice transversale şi longitudinale.

Cercetările transversale evidenţiază în antecedentele bolnavilor cu infarct miocardic valori crescute ale colesterolului şi/sau trigliceridelor (69, 73—79). În infarctul miocardic acut, atît colesterolul (70), cît şi trigliceridele (71) scad în primele 7—14 zile, după care asistăm la reascensionarea lor. Studiile epidemiologice de referinţă abordează supravieţuitorii după infarct miocardic, începînd cu a 3-a lună de la episodul acut.

Distribuţia tipurilor de HLP la supravieţuitorii de infarct miocardic (3 luni — 2 ani) este redată în tabelul VIII.25. Patterson şi Slack (77) şi Gustafson (69) evidenţiază mai frecvent HLP tip II în timp ce Hazzard şi colab. (80) demonstrează prevalenţa crescută a HLP tip IV, dar fără a depăşi sumarea HLP tip II A şi II B. Acelaşi fenomen este comunicat şi de Nikkila şi Aro (73, 78). Foarte interesantă este observaţia lui Klenens (68) care, la bolnavii cu vîrsta sub 50 de ani, evidenţiază mai frecvent HLP tip II B, în timp ce la bolnavii peste 50 de ani, prevalenţa mai mare o are HLP tip IV.

Cercetări epidemiologice prospective, evidenţiază caracterul predictiv în apariţia infarctului miocardic atît al hipercolesterolemiei (56—59, 65—66), cît şi al hipertrigliceridemiei (10). Nu se poate afirma încă acest lucru diferenţiat în cazul diferitelor tipuri de HLP.

Foarte recent, Carlson (116), evidenţiază la supravieţuitorii după infarct miocardic, o interesantă anomalie lipoproteică. Este vorba de creşterea concentraţiei de trigliceride în LDL (LDL-hipertrigliceridemie). Aceasta este o cauză importantă a hipertrigliceridemiei întîlnită în circumstanţe similare.

O altă anomalie lipoproteică evidenţiată la bolnavii cu infarct miocardic în antecedente (3 luni de la episodul acut) este scăderea con-

centrației HDL (120). Corelînd acest fenomen cu variația inversă a frecvenței cardiopatiei ischemice și concentrația col-HDL și cu raritatea sau chiar lipsa patologiei clinice aterosclerotice, la subiecții cu hiper-alfaproteinemie familiară, aduc în discuție, cu titlu de ipoteză, rolul „protector" al hiper-HDL în ateroscleroză (119—120).

C. ASPECTE GENETICE ; COMPORTAREA LIPIDELOR ȘI LIPOPROTEINELOR SERICE LA RUDENIILE BOLNAVILOR DE INFARCT MIOCARDIC

Investigarea lipidelor și lipoproteinelor serice la rudeniile bolnavilor cu infarct miocardic furnizează date asupra intricării factorului genetic și cîștigat în determinismul acestor parametri. Pînă în prezent, există 3 cercetări de acest gen (77, 78, 79). Ele demonstrează :

— creșterea valorilor colesterolului la rudeniile de gradul I și II ale bolnavilor cu infarct miocardic la care era prezentă și HLP tip II ;

— creșterea valorilor trigliceridelor la rudeniile de gradul I și II ale bolnavilor cu infarct miocardic la care era prezentă și HLP tip IV ;

— creșterea prevalenței HLP tip II a, II b și IV, la rudeniile de gradul IV ale bolnavilor cu infarct miocardic la care era prezentă și HLP tip II sau IV, comparativ cu prevalența HLP în populația generală. Nu se poate preciza modalitatea de transmisie a acestei anomalii genetice.

VIII.6.2. ATEROSCLEROZA CEREBRALĂ

A. STUDII TRANSVERSALE

În cercetarea noastră epidemiologică (tabelele VIII.18—22) se demonstrează valori crescute semnificativ statistic ale colesterolemiei și trigliceridemiei la bolnavii cu ateroscleroză cerebrală, comparativ cu populația sănătoasă. Excepție se constată în cazul colesterolemiei bărbaților din grupele de vîrstă ale deceniilor V și VI.

În tabelul VIII.23, este redată distribuția tipurilor de HLP în ateroscleroza cerebrală. Frecvența cea mai mare se observă în cazul HLP tip IV, urmată de HLP tip III.

În literatură, datele asupra valorii discriminative a colesterolului, trigliceridelor și lipoproteinelor în ateroscleroza cerebrală sînt extrem de contradictorii.

Unii autori contestă hipercolesterolemia ca factor de risc în ateroscleroza cerebrală (82, 83, 84), acest lucru fiind recunoscut numai în cazul hipertrigliceridemiei (84).

B. STUDII LONGITUDINALE

Valoarea predictivă a hipercolesterolemiei și hipertrigliceridemiei în apariția infarctului cerebral a fost demonstrată la bărbați și femei de vîrstă sub 50 de ani, prin studiul prospectiv de la Framingham eșalonat

Scanned with OKEN Scanner

pe o durată de 16 ani (85). La concluzii asemănătoare ajung și cercetările prospective din Japonia, unde boala cerebrovasculară ocupă un loc aparte în cadrul localizărilor aterosclerozei (109—111).

Se poate conchide că în comparație cu ateroscleroza coronariană, în ateroscleroza cerebrală caracterul de factor de risc al HL—HLP nu este unanim demonstrat și recunoscut.

VIII.6.3. ATEROSCLEROZA PERIFERICĂ OCLUSIVĂ (ARTERIOPATIA OBLITERANTĂ A MEMBRELOR INFERIOARE)

A. CERCETĂRI TRANSVERSALE

În tabelele VIII.18—22 redăm variația colesterolemiei și trigliceridelor serice la bolnavii cu arteriopatie periferică oclusivă, selectați în cadrul cercetării noastre epidemiologice. Colesterolemia prezintă valori crescute

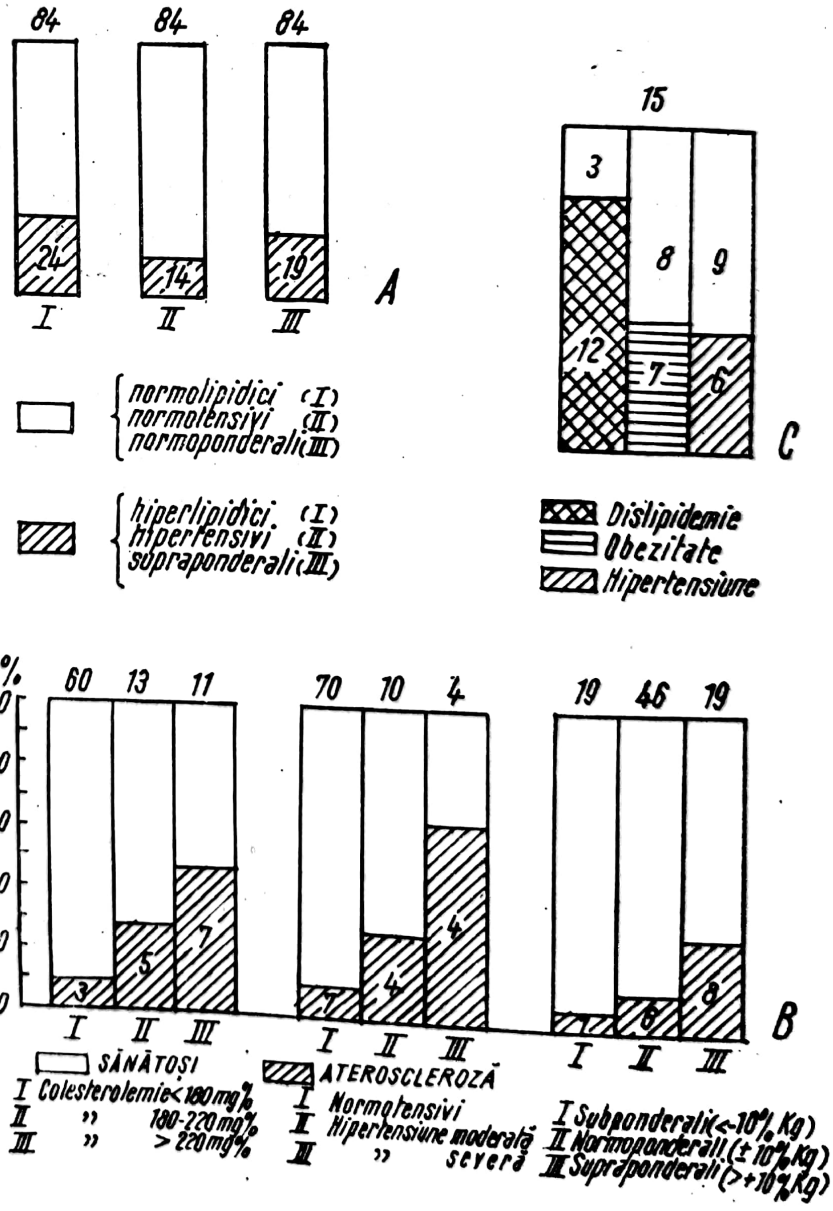


Fig. VIII.2. — A — Prevalența tulburărilor metabolice, hipertensiunii arteriale și obezității la un grup populațional, la intrarea în studiu; B — Riscul apariției aterosclerozei sau complicațiilor sale în decursul observației (8 ani) în funcție de prezența și gradul factorilor de risc; C — Ponderea diferiților factori de risc în 15 cazuri de ateroscleroză manifestă, apărută în timpul celor 8 ani de observație (după Orha — 93).

semnificativ statistic la grupul femeilor cu arteriopatie periferică oclusivă, comparativ cu martorii. La bărbați, fenomenul este prezent numai la grupul de vîrstă între 31 și 40 de ani. Trigliceridemia este statistic semnificativ mai crescută la femeile cu arteriopatie periferică oclusivă de vîrstă sub 45 de ani. La bărbați, fenomenul este prezent în toate decadele de vîrstă investigate.

Studiind distribuția tipurilor de HLP la bolnavii cu arteriopatie periferică oclusivă, se remarcă o frecvență predominantă în cazul HLP tip II b care împreună cu HLP tip II a constituie mai mult de 50% din cazurile de HLP. O frecvență crescută este notată și în cazul HLP tip IV.

Deși cercetările epidemiologice asupra HL—HLP ca factori de risc în arteriopatiile periferice oclusive sînt reduse comparativ cu ateroscleroza coronariană, există date care au o semnificație asemănătoare cu cele prezentate de noi în ceea ce privește valoarea discriminativă a colesterolemiei și trigliceridemiei (86—88, 117). Distribuția tipurilor de HLP în această boală este însă controversată. Astfel, Kremer și colab. (86) evidențiază mai frecvent HLP tip IV, fenomen demonstrat sau contestat de alți autori (89, 90).

B. CERCETĂRI LONGITUDINALE

Valoarea predictivă în dezvoltarea arteriopatiei periferice oclusive este demonstrată în prezent numai în cazul hipercolesterolemiei. Este vorba de studiul de la Framingham, efectuat pe o durată de 16 ani (92).

VIII.6.4. MACROANGIOPATIA DIABETICĂ

Frecvența macroangiopatiei este mult mai mare în diabetul zaharat comparativ cu bolnavii nediabetici (100, 105, 106). În figura VIII.3.4.5. este redat acest fenomen în cazul aterosclerozei coronariene și a arterio-

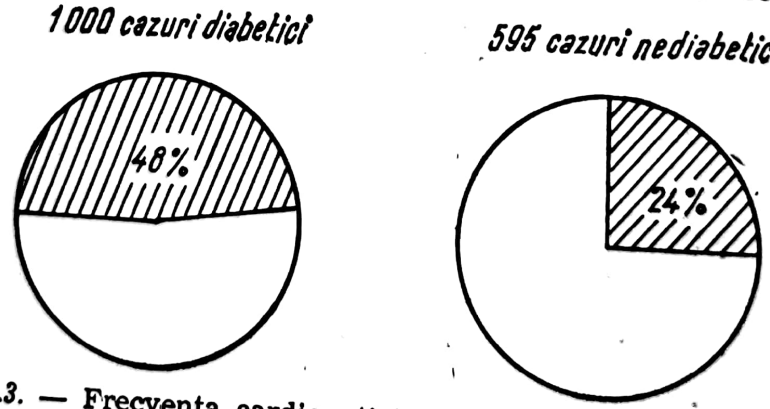


Fig. VIII.3. — Frecvența cardiopatiei ischemice la diabetici și nediabetici.

patiei periferice oclusive. În cadrul diabetului zaharat cu macroangiopatie, 50% din cazuri se datoresc cardiopatiei ischemice ; cu o frecvență egală sînt repartizate arteriopatia periferică oclusivă și ateroscleroza cerebrală. Apariția și evoluția lor în funcție de vîrstă sînt redate în figura VIII.6. Deși în determinismul macroangiopatiei diabetice intervin multiplii factori de risc (101, 105, 106), HL—HLP i se acordă un rol aparte.

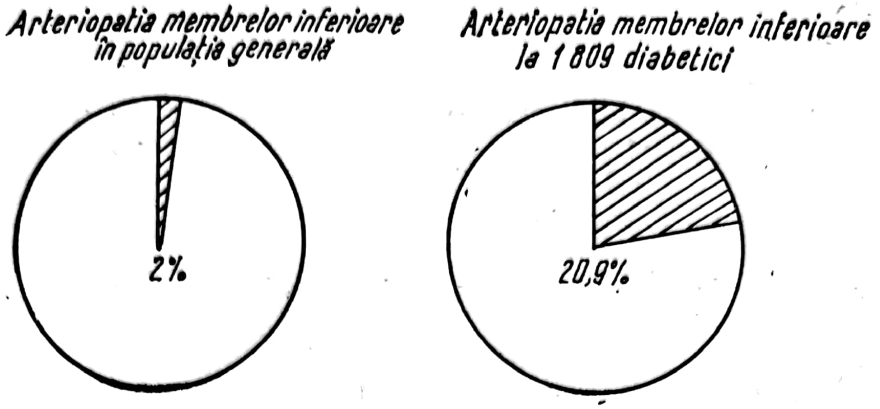


Fig. VIII.4. — Frecvența arteriopatiei membrelor inferioare în populația generală și la diabetici.

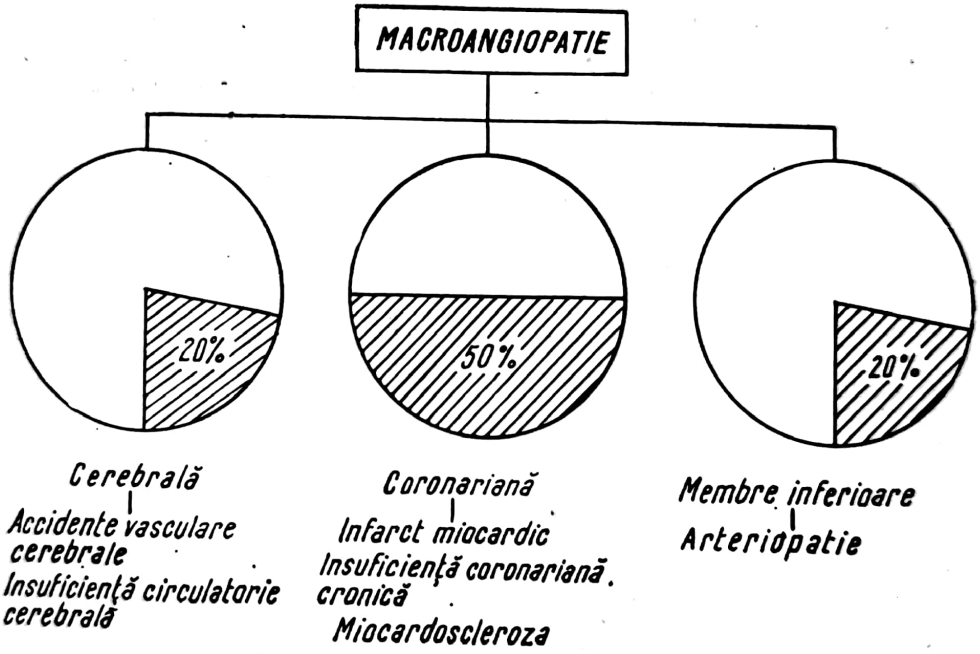


Fig. VIII.5. — Frecvența principalelor localizări și manifestări ale macroangiopatiei diabetice.

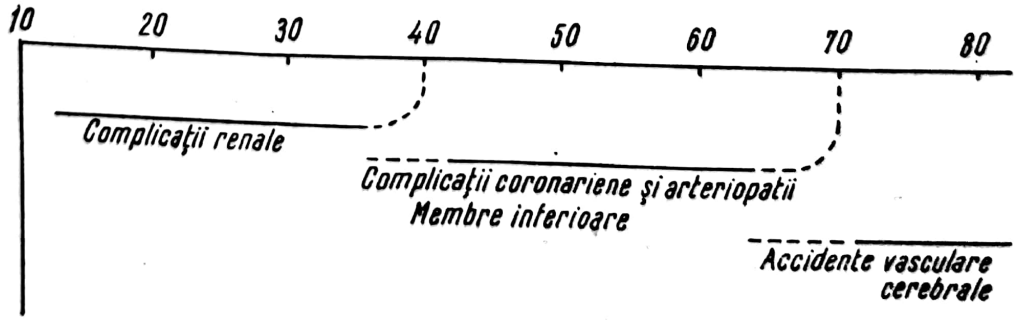


Fig. VIII.6. — Reprezentarea frecvenței diferitelor complicații vasculare la diabetici în raport cu vîrsta.

Studiile transversale evidenţiază caracterul discriminativ al hipercolesterolemiei şi hipertrigliceridemiei în cazul macroangiopatiei diabetice, comparativ cu diabeticii fără angiopatie (tabelul VIII.26).

Prevalenţa HLP la grupuri de diabetici în funcţie de prezenţa sau absenţa macroangiopatiei (tabelul VIII.27.) este, de asemenea, concludentă. HLP (mai frecvent tipul IV) este prezentă în 88% din cazurile de diabet zaharat cu macroangiopatie, în timp ce la diabeticii fără macroangiopatie este prezentă doar în 20% din cazuri.

Date asemănătoare sînt publicate şi de alţi autori (101, 104, 107, 108). Nu există totuşi unanimitate în acordarea caracterului prioritar hipercolesterolemiei sau hipertrigliceridemiei, ca marker umoral al macroangiopatiei diabetice. Studii prospective vizînd HL—HLP ca markeri predictivi ai macroangiopatiei diabetice nu se cunosc.

Tabelul VIII.26

Colesterolemia şi trigliceridemia în diabetul zaharat echilibrat fără macroangiopatie (100 bolnavi) şi în diabetul zaharat echilibrat cu macroangiopatie (100 de bolnavi). În ambele grupuri vechimea bolii este între 5 şi 10 ani, vîrsta între 35 şi 50 de ani, 65% bărbaţi şi 35% femei şi normoponderali. Diagnosticul de macroangiopatie se referă la cardiopatia ischemică şi/sau arteriopatia periferică

Grupurile de diabetici	Colesterolemie (mg %) $\bar{X} \pm$ E.s	Trigliceridemie (mg %) $\bar{X} \pm$ E.s
Fără angiopatie 100 bolnavi	224±31	181±19
Cu macroangiopatie 100 bolnavi	296±23	219±18
Total student	$p < 0,01$	$p < 0,01$

Tabelul VIII.27

Spectrul lipoproteinic seric în diabetul zaharat echilibrat fără angiopatie (100 de bolnavi) şi în diabetul zaharat echilibrat cu macroangiopatie (100 bolnavi). În ambele grupuri vechimea bolii este între 5 şi 10 ani, vîrsta între 35 şi 50 de ani, 65% bărbaţi şi 35% femei şi normoponderali. Diagnosticul de macroangiopatie se referă la cardiopatia ischemică şi/sau arteriopatie periferică

Grupurile de diabetici	Spectrul lipoproteinic seric					
	normal	HLP tip II a	HLP tip II b	HLP tip III	HLP tip IV	Total HLP
Fără angiopatie 100 cazuri	80	3	5	0	12	20
Cu macroangiopatie 100 cazuri	12	17	13	7	51	88

VIII.6.6. HIPERLIPIDEMIA — HIPERLIPOPROTEINEMIA, CORELATIV CU ALŢI FACTORI DE RISC VASCULAR

Caracterul discriminativ şi predictiv al HL—HLP în apariţia diferitelor forme clinice de ateroscleroză trebuie corelat şi cu alţi factori de risc vascular. Statistic, acest lucru a devenit posibil din anul 1967, cînd Truett

şi Cornfield (92) au introdus analiza multivariată în interpretarea preponderenţei diferiţilor factori de risc ai aterosclerozei. Prin aplicarea acestei metode, care se bazează pe caracterul discriminativ al funcţiilor logice multiple, s-a reuşit definirea „profilului coronarian" (58) şi a „profilului aterosclerozei cerebrale" (85). Markerii „profilului coronarian" sînt : HL—HLP, fumatul excesiv, hipertensiunea arterială, diabetul zaharat, *stress*-ul psihic, sedentarismul şi obezitatea. În cazul aterosclerozei cerebrale (în special al hemoragiei cerebrale şi infarctului cerebral) Markerii sînt : hipertensiunea arterială, diabetul zaharat şi HL—HLP. Definirea „profilului arteriopatiilor periferice oclusive" (91) este mai dificilă. Se pot descrie ca markeri : fumatul excesiv, hipercolesterolemia, HLP, hipertensiunea arterială şi scăderea toleranţei la glucide.

Un studiu efectuat de Orha, pe o durată de 8 ani (93), atestă importanţa deosebită a factorilor multipli de risc (hipercolesterolemia, hipertensiunea arterială, obezitate, sedentarism), în apariţia aterosclerozei (vezi fig. VIII.2). Analiza rezultatelor sale conduce la ideea conform căreia caracterul predictiv al HL—HLP în apariţia aterosclerozei este amplificat de prezenţa concomitentă şi a altor factori de risc vascular. Deşi problema va fi relatată detaliat în vol. II, precizăm de acum, că potenţarea reciprocă a diferiţilor factori de risc aterogen se face de o manieră exponenţială.

VIII.7. ISTORIA NATURALĂ A HIPERLIPIDEMIILOR— HIPERLIPOPROTEINEMIILOR

Istoria naturală a HL—HLP necesită o documentare epidemiologică complexă. Totuşi, din datele existente pînă în prezent, se poate concepe un model evolutiv pe care îl redăm în figura VIII.7.

Apariţia stărilor HL—HLP este consecinţa fie a unui defect poligenomic ereditar, fie a prezenţei factorilor de risc hiperlipidemianţi (congenitali, dar, mai ales, cîştigaţi). Aceşti doi factori principali se pot suma sau pot acţiona independent. Chiar de la naştere, dar, mai ales, în cursul vieţii, poate avea loc o asociere cu alţi factori de risc vascular, care uneori se confundă cu factorii de risc hiperlipidemianţi.

O parte din HL—HLP sînt depistate, în timp ce altele rămîn nedepistate, HL—HLP depistate se selectează în continuare în funcţie de tratament şi de eficienţa acestuia. Se cunosc următoarele posibilităţi evolutive :

— normalizarea spectrului lipidic şi lipoproteinic, care poate fi permanentă sau episodică. În această ultimă eventualitate, datorită persistenţei agenţilor patogenetici, este posibilă reapariţia HL—HLP ;

— ineficienţa tratamentului hipolipidemiant, datorită unui tratament greşit sau a persistenţei factorilor patogenetici ;

— interconversiunea tipologică, care poate fi remarcată la bolnavii aflaţi sub tratament, sau spontan sub acţiunea factorilor de risc hiperlipi-

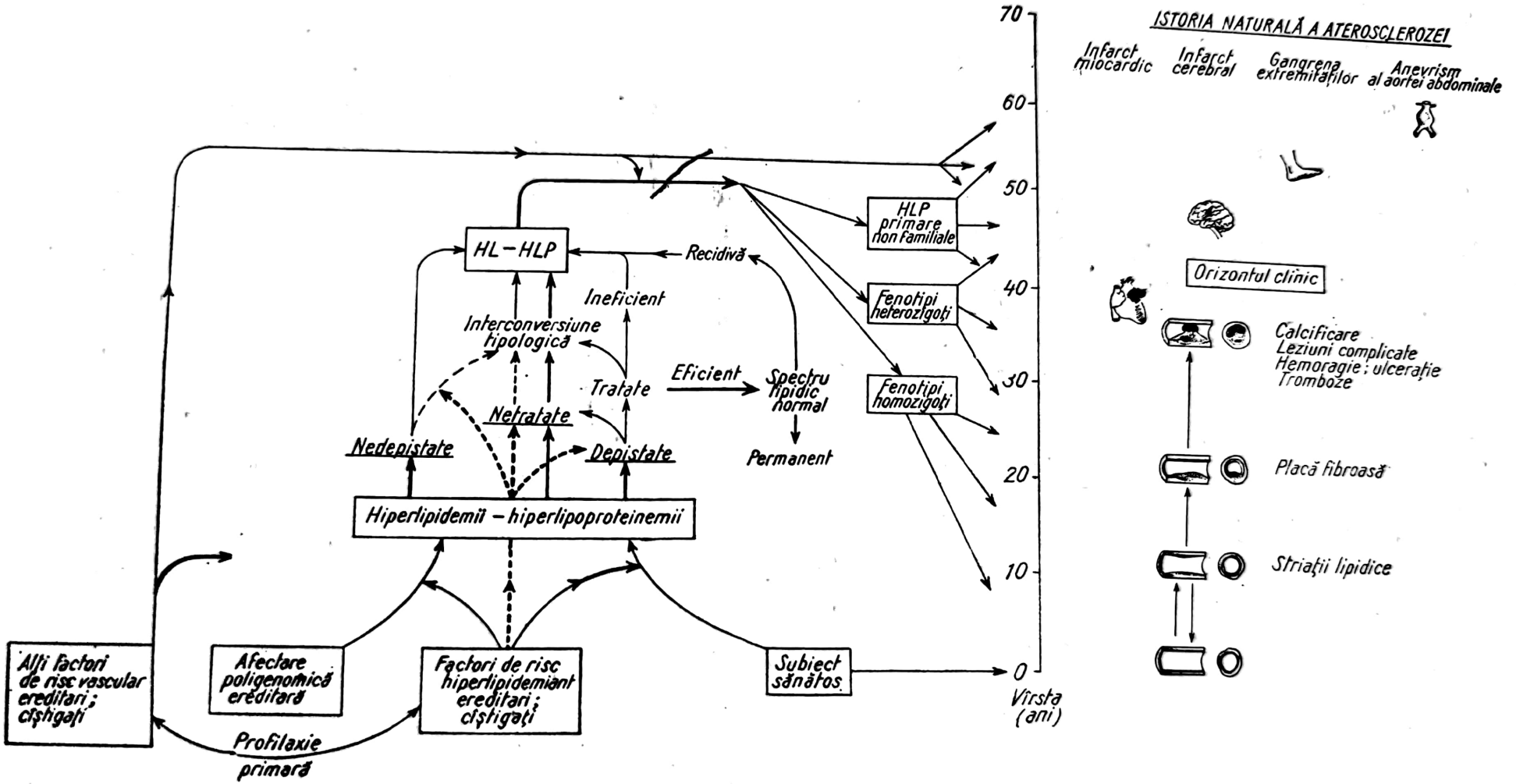


Fig. VIII.7. — **Istoria naturală a stărilor hiperlipidemice și hiperlipoproteinemice. (Partea din dreapta a figurii este inspirată după STRONG McGILL — 98)**

demianți. Se presupune că fenomenul ar fi posibil și la cazurile nedepistate.

În tabelul VIII.28, redăm cazurile de interconversiune tipologică spontană la HLP, evidențiată în cadrul cercetării noastre epidemiologice. Menționăm că acest fenomen are loc și în urma infarctului miocardic (99).

HL—HLP persistente se prezintă sub cele trei forme etiologice majore ;

— formele primare familiale cu fenotipii homozigoți și heterozigoți ;
— formele primare nonfamiliale ;
— formele secundare.

Tabelul VIII.28

Interconversiunea tipologică spontană în cazurile de hiperlipoproteinemie, evidențiate de cercetarea noastră epidemiologică

Tipul de HLP	Nr. de caz uri	Tipul de HLP				
		II a	II b	III	IV	V
II a	19	—	17	2	—	—
II b	25	17	—	3	15	—
III	8	—	5	—	3	—
IV	14	4	8	1	—	—
V	1	—	—	—	1	—
Total	67 (6,64)					

La aceste forme de HLP se poate cumula acțiunea altor factori de risc vascular care, împreună sau izolați, se interferează (sau chiar se confundă) cu istoria naturală a aterosclerozei. Diferențierea acțiunii lor cronologice este inclusă de forma etiologică a HLP :

— acțiune precoce în cazul fenotipilor homozigoți ;
— acțiune în perioada adultă, în cazul fenotipilor heterozigoți ;
— acțiune în perioada adultă sau de maturitate în cazul formelor primare nonfamiliale.

Interpretînd sub alt aspect acest model evolutiv, apare ca foarte clar conceptul modern conform căruia ateroscleroza, din punct de vedere patogenetic, trebuie considerată ca o problemă de pediatrie (96—98). Din acest motiv, profilaxia HL—HLP, cît și a aterosclerozei aproape se confundă. Sîntem convinși că cercetările în curs de efectuare (94), care au drept obiectiv depistarea activă și eradicarea factorilor de risc vascular, vor demonstra justețea acestor ipoteze.

La conturarea acestui model evolutiv al HL—HLP o contribuție importantă au avut-o observațiile clinice individuale, care așa cum spune P. D. White „...ne învață adeseori mai mult decît toate celelalte la un loc..." (cit. 36). Rămîne în continuare ca cercetări epidemiologice prospective să stabilească ponderea exactă cantitativă a acestor variante evolutive.

IX. PROFILAXIA HIPERLIPIDEMIILOR— HIPERLIPOPROTEINE-MIILOR

IX.1. PROBLEMATICA PROFILAXIEI STĂRILOR HIPERLIPIDEMIANTE— HIPERLIPOPROTEINEMIANTE

Modalitatea cea mai eficientă de reducere a morbidității și mortalității prin boli cardio-vasculare este *abordarea lor într-o fază profilactic-utilă.*

Profilaxia aterosclerozei și a manifestărilor sale clinice se situează în centrul preocupărilor unei astfel de medicini preventive, ea însăși dominînd interesul cercetărilor medicale prezente și prospective. Relația între stările HL—HLP și ateroscleroză, fiind demonstrată pe multiple planuri, apare firească și imperativă în același timp organizarea intensivă și extensivă a profilaxiei stărilor HL—HLP.

Orice *decizie profilactică* este determinată de imperativele sanitare și socio-economice, consecințe directe ale caracterelor epidemiologice și agresivității bolii respective. *Acțiunile profilactice postdecizie* se axează pe fundamentarea teoretică din cadrul deciziei, bazată pe etiologia și mecanismele patogenetice care produc boala. În felul acesta, *complexul decizie-acțiune profilactică,* pe de o parte indus, pe de altă parte inductor, devine o componentă extrem de importantă a metafilaxiei. Modul în care el devine operant asupra prebolii, bolii sau complicațiilor sale (profilaxie primară, secundară, terțiară) depinde atît de subiecții-pacienți, cît și de medic, factor socio-cultural și politico-organizatoric. Cele trei tipuri de acțiuni din cadrul programelor profilactice devin eficiente într-un procent invers proporțional cu momentul cronologic al intervenției lor în evoluția bolii (fig. IX.1.).

IX.1.1. DECIZIA PROGRAMULUI PROFILAXIEI STĂRILOR HIPERLIPIDEMIANTE — HIPERLIPO-PROTEINEMIANTE

Decizia programului profilactic în stările HL—HLP este condiționată de agresivitatea deosebită a acestor anomalii metabolice. Datele de epidemiologie furnizează numeroase elemente care demonstrează (1—9) :

— creșterea incidenței stărilor HL—HLP, evidențiată în urma studiilor populaționale ;

— aterogenitatea HL—HLP, care se amplifică direct proporţional cu penetraţia genoamelor afectate (homo- sau heterozigoţi) sau cu factorii de risc hiperlipidemianţi cumulaţi în timpul vieţii ;

— relaţia directă între stările HL—HLP şi manifestările clinice ale aterosclerozei, dintre care cardiopatia ischemică este cauza cea mai importantă de deces în ultimele decenii, în ţările dezvoltate sau în curs de dezvoltare ;

— ameliorarea stărilor HL—HLP prin influenţarea unor factori hiperlipidemianţi de certitudine ;

— reducerea morbidităţii şi mortalităţii prin cardiopatia ischemică în urma ameliorării HL—HLP (9, 28).

În cadrul deciziei, stabilirea acţiunilor programului profilactic în stările HL—HLP se face în virtutea unor *premise teoretice*, vizînd etiopatogenia acestor anomalii. Principiul fundamental în etiopatogenia stărilor HL—HLP constă în faptul că factorii genetici hiperlipidemianţi sau cei postnatali acţionează aproape întotdeauna împreună. Asimetria şi asincronismul interferării lor se traduce prin variate forme de HL—HLP, cît şi prin vîrsta diferită de manifestare clinico-umorală.

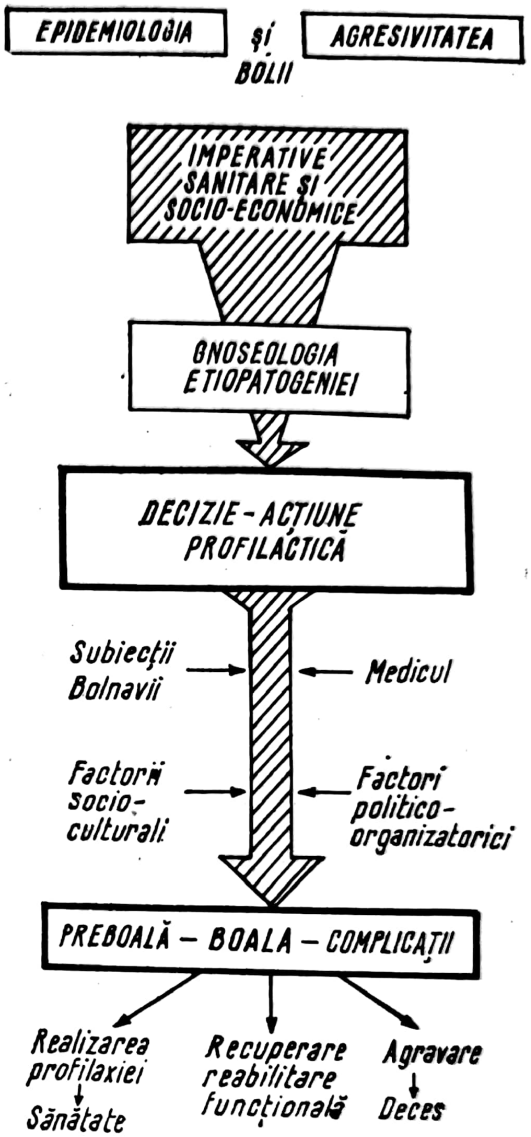


Fig. IX.1. — Determinismul şi dinamica programului profilactic.

IX.1.2. ACŢIUNILE PROGRAMULUI PROFILACTIC ÎN STĂRILE HIPERLIPIDEMIANTE — HIPERLIPOPROTEINEMIANTE

La fel ca în orice program profilactic, în funcţie de diferenţierea cronologică a obiectivelor sale, acţiunile care vizează prevenţia stărilor HL—HLP se împart în : profilaxie primară, secundară, terţiară. În figura IX.2. este redată strategia profilactică generală a stărilor HL—HLP :

— profilaxia primară vizează depistarea, ameliorarea sau suprimarea factorilor de risc hiperlipidemianţi — hiperlipoproteinemianţi ;

— profilaxia secundară cuprinde depistarea activă şi precoce a stărilor HL—HLP şi tratarea lor ;

— profilaxia terțiară se adresează complicațiilor HL—HLP care trebuie depistate și tratate.

Eficiența unei etape determină amploarea acțiunilor din etapa următoare. Oricum, este greu sau aproape imposibil de realizat o profilaxie total eficientă într-o anumită fază, prezența etapei următoare aproape întotdeauna fiind obligatorie.

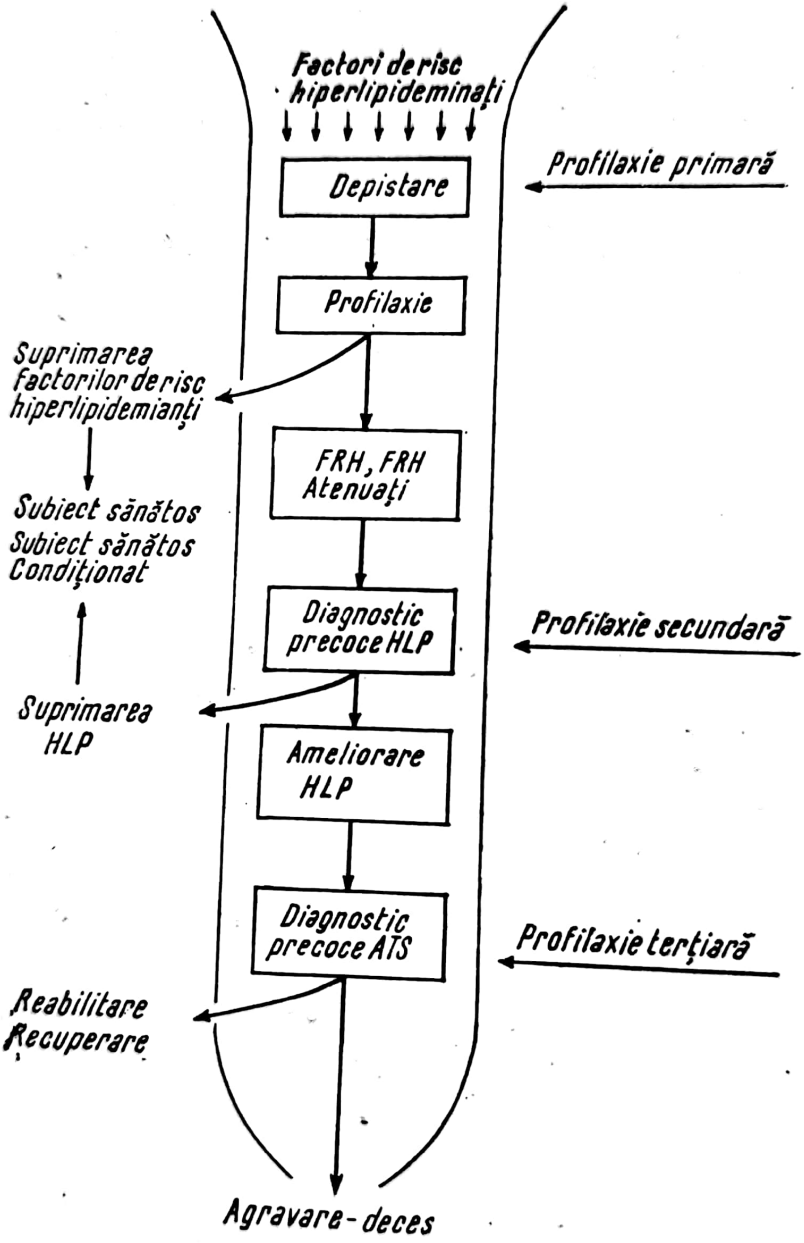


Fig. XI.2. — Programul profilaxiei stărilor hiperlipidemice-hiperlipoproteinemice.

Trebuie precizate unele elemente extrem de importante, care deși sînt valabile în orice program profilactic, în cazul prevenției stărilor HL—HLP comportă aspecte deosebite. Este vorba de conjugarea eforturi-

lor medicale cu angajarea politico-organizatorică locală, cît și cu factorii socio-familiali. În felul acesta, realizarea programului profilactic, în ultimă instanță, depinde de relația medici-populație, influențată direct de politica sanitară națională.

IX.2. PROFILAXIA PRIMARĂ A HIPERLIPIDEMIILOR— HIPERLIPOPROTEINEMIILOR

IX.2.1. DEPISTAREA FACTORILOR DE RISC HIPERLIPIDEMIANT — HIPERLIPOPROTEINEMIANT

La capitolele respective s-au amintit elemente etiologice hiperlipidemiante. Acțiunile profilactice efectuate pentru depistarea lor se referă la :

— depistarea focarelor de HLP familiale. Întotdeauna descoperirea unei HLP familiale trebuie să fie însoțită de cercetări biochimice „în focar" pentru depistarea celorlalte cazuri ;

— depistarea factorilor etiologici din HLP primare : obezitate, patoalimentație excedentară, diabet zaharat, pancreatită, *stress*, sedentarism, alcoolism, factori iatrogeni ;

— depistarea HLP secundare, în special în cadrul distiroidiilor, climaxului, nefropatiilor, gutei și hiperuricemiilor. Nu se vor omite nici celelalte cauze, așa cum au fost descrise în capitolul VII.

În cazul depistării unei stări HL—HLP, membrii familiei bolnavului vor fi considerați ca *potențiali hiperlipidemici — hiperlipoproteinemici*. Cercetări biochimice, cît și dispensarizarea prospectivă, vor elucida menținerea sau abandonarea acestui verdict.

Profilaxia primară a HL—HLP trebuie situată în cadrul mai larg și mai important al profilaxiei aterosclerozei. Clasic, profilaxia primară a aterosclerozei se referă la depistarea și ameliorarea factorilor de risc vascular. În concepția noastră, această acțiune trebuie extinsă și la cauzele specifice unor factori de risc vascular, *adică la factorii de risc ai factorilor de risc vascular*. În cazul HL—HLP, aceștia sînt : factorul ereditar hiperlipidemiant, pancreatitele, nefropatiile, bolile imunologice cu potențial hiperlipidemiant, medicația tiazidică, cortizonică sau anticoncepțională, alte boli cu potențial hiperlipidemiant. Pentru acești factori propunem termenul de *factori cu potențial de risc vascular*, iar acțiunea de depistare și ameliorare a lor (în cadrul profilaxiei aterosclerozei) o definim ca *profilaxie primară precoce*. Ceilalți factori de risc hiperlipidemiant : patoalimentația excedentară, obezitatea, diabetul zaharat, *stress-ul* psihic, sînt de fapt factori de risc vascular propriu-ziși. Dar și în cadrul lor, sau a celorlalți factori de risc vascular, cum ar fi hipertensiunea arterială, se pot

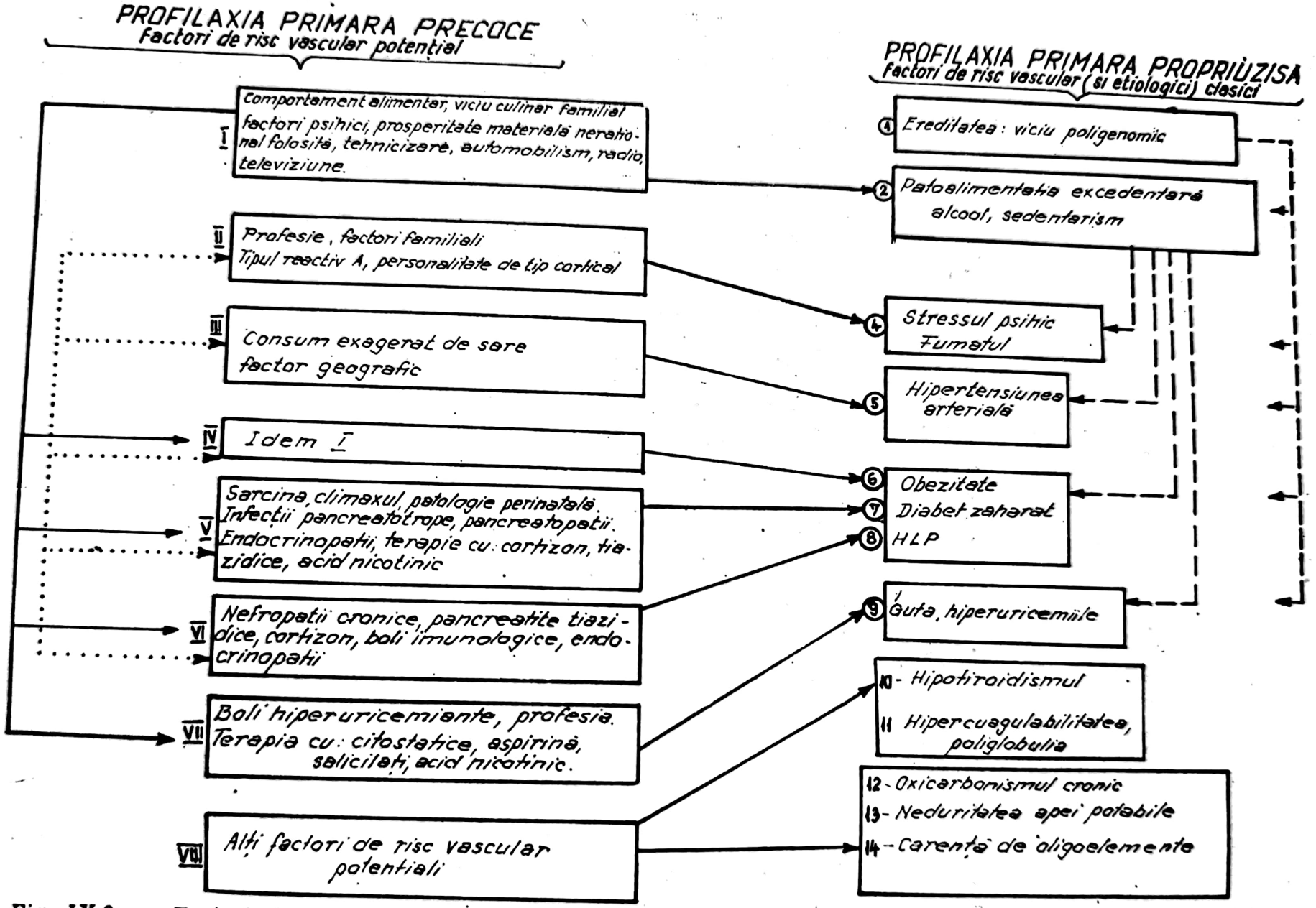


Fig. IX.3. — Factori de risc vascular potenţiali şi clasici, principalele relaţii inter- şi intragrup — profilaxia, primară precoce şi profilaxia primară propriu-zisă a aterosclerozei.

Scanned with OKEN Scanner

depista factori de risc specifici (de exemplu, consumul exagerat de sare în cazul hipertensiunii arteriale, sau parotidita epidemică şi macrosomia fetală pentru diabetul zaharat). În fig. IX.3 redăm factorii de risc vascular potenţiali şi clasici, cît şi principalele relaţii inter şi intragrup.

IX.2.2. AMELIORAREA ŞI SUPRIMAREA FACTORILOR DE RISC HIPERLIPIDEMIANT — HIPERLIPOPROTEINEMIANT

Influenţarea factorului genetic hiperlipidemiant — hiperlipoproteinemiant nu pare, deocamdată, posibilă, decît prin prevenirea căsătoriei între doi bolnavi cu HL—HLP homo- sau heterozigoţi.

Ameliorarea şi suprimarea factorilor de risc HL—HLP, secundari unor anumite boli, se face în contextul terapiei afecţiunii de bază.

Factorii de risc HL—HLP majori, care necesită intervenţia profilactică promptă, energică şi de lungă durată, sînt : obezitatea, patoalimentaţia excedentară, alcoolismul, *stress*-ul (în special cel psihic), sedentarismul, adeseori asociaţi cu fumatul şi consumul de cafea. Ei sînt prezenţi cu o frecvenţă impresionantă în populaţiile ţărilor dezvoltate sau în curs de dezvoltare, acţionînd adeseori în constelaţie sub forma „situaţiilor de risc". Ameliorarea sau suprimarea lor este un mare imperativ al zilelor noastre, din nefericire extrem de greu de realizat. Nocivitatea lor este deosebită atît în sens hiperlipidemiant, cît şi în sens aterogen, deoarece de cele mai multe ori ei acţionează conjugat.

Măsurile care trebuie întreprinse pentru ameliorarea şi suprimarea lor sînt complexe :

— introducerea unei alimentaţii raţionale cantitativ (caloric) şi calitativ, reducerea sau suprimarea consumului de alcool, cafea, cît şi a obiceiului de a fuma ;

— reducerea supraponderei ;

— creşterea regimului de activitate fizică ;

— evitarea situaţiilor de *stress* psihic.

Aceste măsuri credem că trebuie intreprinse nu numai în cazul subiecţilor la care factorii de risc au fost evidenţiaţi. Ele ar trebui extinse şi la subiecţii care au prezente în antecedentele eredo-colaterale boli cardiovasculare şi stări HL—HLP, diabet zaharat şi obezitate.

Tratamentul corect al diabetului zaharat, profilaxia lui primară şi secundară, reprezintă în acelaşi timp şi acţiuni profilactice primare ale stărilor HL—HLP.

Atenţionarea medicului şi a pacienţilor în cazul consumului unor medicamente cu potenţial hiperlipidemiant se impune.

Scanned with OKEN Scanner

Profilaxia şi terapia corectă a pancreatitelor acute se înscrie, de asemenea, în acţiunile profilactice primare din stările HL—HLP.

Prin introducerea conceptului profilaxiei primare precoce, asigurăm acţiunilor ateroprofilactice un caracter extensiv maxim.

IX.3. PROFILAXIA SECUNDARĂ A HIPERLIPIDEMIILOR— HIPERLIPOPROTEINEMIILOR

IX.3.1. DEPISTAREA ACTIVĂ A STĂRILOR HIPERLIPIDEMIANTE — HIPERLIPOPROTEINEMIANTE

Depistarea activă a stărilor HL—HLP este o acţiune complexă care necesită angajarea mai multor factori : medicali, politico-organizatorici, socio-culturali şi familiali. În accepţiunea unei perfecte sincronizări a acestor factori se ridică în continuare două probleme : metodologia acţiunii de depistare („cum depistezi :") şi obiectivele ei („pe cine investighezi — pe cine depistezi ?").

A. METODOLOGIA ACŢIUNII DE DEPISTARE ACTIVĂ

În capitolul VIII am redat metoda utilizată de noi pentru depistarea activă a stărilor HL—HLP în populaţia generală care în esenţă constă în determinarea colesterolemiei şi trigliceridemiei ; alături de efectuarea testului chilomicronilor şi a lipidogramelor. În acţiunea de depistare a hiperlipidemiilor se poate utiliza şi determinarea lipidelor serice totale, mai ales dacă dozarea trigliceridelor nu este posibilă (10). Şansa de a depista o hiperlipidemie, în funcţie de metodologia întrebuinţată, este următoarea (10) :

— prin determinarea colesterolului seric se evidenţiază 75% din hiperlipidemii ;

— prin determinarea colesterolului şi a lipidelor serice totale se evidenţiază pînă la 90—96% din hiperlipidemii ;

— prin determinarea colesterolului şi trigliceridelor se evidenţiază 99—100% din hiperlipidemii.

Pentru depistările screening s-au propus metode automatice în scopul facilitării dozării colesterolemiei, trigliceridemiei şi lipidelor serice totale (10).

B. OBIECTIVELE ACȚIUNII DE DEPISTARE

Acțiunea de depistare trebuie orientată preferențial spre focarele care prezintă factori de risc HL—HLP, expuse în cadrul profilaxiei primare. Ea se completează cu investigații în rîndul populației generale (metode screening).

În ultimii ani, în scopul stabilirii unui diagnostic precoce al stărilor HL—HLP (formele familiale) se utilizează determinarea în sîngele ombilical a trigliceridelor și colesterolului total sau a fracțiilor lipoproteice (11, 12). În tabelul IX.1 redăm valorile colesterolului, trigliceridelor și lipoproteinelor în sîngele ombilical al nou-născutului și modificarea acestor parametri după primul an de viață. Totuși, încă nu există un consens asupra semnificației și valorii acestor parametri în depistarea precoce a HLP.

Tabelul IX.1

Variația valorilor colesterolului și trigliceridelor în sîngele ombilical și în primii 19 ani de viață
(după Levy și Rifkind – 8)

Vîrsta (ani)	Colesterol total (mg %)	Trigliceride (mg%)	Colesterol LDL (mg %)	Colesterol HDL (mg %)	
				Sex M	Sex F
0 (sînge ombilical)	50—95	10—65	20—45	30—55	30—55
1—19	120—230	10—140	50—170	30—65	30—70

Depistarea stărilor HL—HLP nu este similară cu diagnosticarea lor. În etapa actuală, metodele utilizate pentru depistare nu permit decît un diagnostic de orientare. Iată de ce „cazurile problemă" vor fi rechemate în vederea precizării diagnosticului. Cazurile problemă sînt :

— bolnavii la care hiperlipidemia este netă (se încadrează în regula I elaborată de Fredrickson) ;

— subiecți cu hipercolesterolemie între 220—250 mg%, sau trigliceridemiei între 160—200 mg% ;

— orice rudenie din componența familiei unui bolnav la care diagnosticul de HLP familială sau primară nefamilială este cert ;

— rudeniile de gradul I ale bolnavilor cu patologie cardio-vasculară arterosclerotică certă.

Deși în etapa actuală, anumiți autori combat metodele screening din medicina preventivă, deoarece sînt foarte costisitoare (13), păreri autorizate din ce în ce mai numeroase, susțin reala lor importanță, în depistarea stărilor HL—HLP corelate direct cu ateroprofilaxia (15, 16).

IX.3.2. TRATAMENTUL PRECOCE AL STĂRILOR HIPERLIPIDEMIANTE — HIPERLIPOPROTEINEMIANTE

Precocitatea tratamentului stărilor HL—HLP este un element esențial în prevenirea aterosclerozei, deoarece dintre toți factorii de risc vascular acestea au importanța cea mai mare și mai bine documentată (28). Multe

programe profilactice în curs de realizare își bazează acțiunile pe acest raționament (17—24). Conceptul conform căruia ateroscleroza este, din punct de vedere patogenetic, o problemă de pediatrie, obligă la suprimarea hiperlipoproteinemiilor într-o fază în care leziunea parietoarterială este reversibilă (1, 25—27).

IX.4. PROFILAXIA TERȚIARĂ A STĂRILOR HIPERLIPIDEMIANTE—HIPERLIPOPROTEINEMIANTE

Profilaxia terțiară a stărilor HL—HLP se referă de fapt la profilaxia secundară a aterosclerozei, tot așa cum profilaxia secundară a stărilor HL—HLP se referă la profilaxia primară a aceleiași boli.

Precocitatea diagnosticului aterosclerozei la un bolnav cu HL—HLP este un element esențial în eficiența profilaxiei organopatiilor aterosclerotice și a accidentelor lor majore (infarct miocardic, accident cerebral, gangrena extremităților etc.).

În concluzie, abordarea aterosclerozei într-o *fază profilactic utilă* presupune în termeni imperativi profilaxia stărilor HL—HLP, deoarece dintre toți factorii de risc vascular, acestea au importanța cea mai mare.

În momentul de față sînt în curs de desfășurare multe programe de profilaxie primară și secundară a aterosclerozei. S-au comunicat și unele concluzii preliminarii care nu sînt întru totul concordante. Dar problema va fi reluată în vol. II amintind de pe acum că :

— programele care au utilizat Clofibrat-ul, au demonstrat fie eficiența (29—31), fie ineficiența sa (32) ;

— tratamentul cronic cu preparate pe bază de acid nicotinic (32) sau anabolizante de sinteză cu efect hipocolesterolemiant și hipotrigliceridemiant, de tipul *Etilnandrolului* (33) se pare că are un efect favorabil în prevenirea aterosclerozei și a organopatiilor aterosclerotice.

Opțiunea noastră fermă în această problemă constă în tratarea precoce energică și controlabilă a oricărui tip de HLP, conform principiilor și metodelor expuse în capitolul X. În cazul HLP persistente, rezistente la tratament, indicăm cure intermitente cu preparate pe bază de *Piridinol Carbamat (Prodectin)*. Acest medicament antibradikininic are acțiune endoteliorelasantă datorită căreia, deși nu este hipolipidemiant, împiedică infiltrația lipidică parieto-arterială și previne aterogeneza în fazele ei precoce (34). Eficiența sa este uneori contestată (35).

Justețea orientării noastre în acțiunea de ateroprofilaxie vizînd HL—HLP (bineînțeles alături de ceilalți factori de risc) este ilustrată de rezultatele parțiale, nepublicate redate la începutul monografiei, doar cu titlu informativ.

Scanned with OKEN Scanner

X. TRATAMENTUL HIPERLIPIDEMIILOR— HIPERLIPOPROTEINE-MIILOR

X.1. PROBLEMATICA TERAPIEI STĂRILOR HIPERLIPIDEMICE— HIPERLIPOPROTEINEMICE

Terapia stărilor HL—HLP preocupă lumea medicală cu o intensitate puțin obișnuită. Cauzele acestui interes general sînt :

— creșterea frecvenței stărilor HL—HLP ;

— posibilitatea influențării aterosclerozei și manifestărilor sale clinice prin ameliorarea stărilor HL—HLP ;

— absența momentană a unei medicații hipolipidemiante ideale.

Scopul terapiei stărilor HL—HLP este scăderea lipidelor și lipoproteinelor sanguine, pînă la concentrații normale pentru decada de vîrstă respectivă, sau cît mai aproape de valorile normale și menținerea la aceste nivele în condiții de activitate cotidiană practic nemodificată.

Obiectivul major al terapiei stărilor HL—HLP a fost amintit : ameliorarea prognosticului morbidității și mortalității prin ateroscleroză. De fapt, privită în ansamblu, terapia hipolipidemiantă face parte integrantă din profilaxia aterosclerozei. Astfel, după Berkowitz (2), scăderea colesterolului seric cu 15—20% ar reduce riscul cardiopatiei ischemice cu 35—60%. Stamler (1) afirmă că în eventualitatea depistării a 50% din populația americană cu colesterol egal sau mai mare de 250 mg% și a scăderii acestor valori cu 10% (prin regim dietetic sau medicație), efectul va fi scăderea incidenței cardiopatiei ischemice cu 24,4%, sau a mortalității prin cardiopatie ischemică cu 6,1% (2,9% din cauzele de deces pe an). Menționăm că statistica se referă la bărbați între vîrsta de 30 și 59 de ani. Gîndindu-ne că aceasta este perioada de activitate bio-socială maximă, putem afirma că argumentația în favoarea importanței terapiei stărilor HL—HLP este fără echivoc.

Metodele tratamentului stărilor HL—HLP sînt :

1) regimul alimentar ;
2) cultura fizică medicală și regimul crescut de activitate fizică ;
3) medicația hipolipemiantă ;
4) tratamentul chirurgical.

Adoptarea metodologiei adecvate depinde de :

— diagnosticul complet al anomaliei lipidice și lipoproteinice (tipul HLP, date etiologice, complicații cardio-vasculare) ;

— încercări anterioare de tratament și eficiența lor ;

— posibilitățile concrete ale bolnavului de realizare a tratamentului.

Scanned with OKEN Scanner

Principiul terapiei stărilor HL—HLP constă în începerea tratamentului prin regim alimentar, cultură fizică medicală sau creşterea regimului de activitate fizică. Dacă după 3 luni spectrul lipidic şi lipoproteinic seric nu se modifică, se introduce medicaţia hipolipidemiantă, fără a abandona primele două metode. Rareori se ajunge la intervenţie chirurgicală.

Dacă asupra dietei hipolipidemiante există un consens, datele asupra medicaţiei hipolipidemiante, deşi extrem de numeroase, sînt controversate. Se cunosc cîteva zeci de medicamente hipolipidemiante, dar aşa cum spune Fredrickson (22) numai 4 merită atenţia noastră : clofibratul, colestiramina, dextrotiroxina şi acidul nicotinic. În faţa literaturii „invazive" care lansează noile droguri, practicianul trebuie să fie circumspect, fără a se entuziasma în faţa oricărui preparat „nou", adjectiv care nu se confundă întotdeauna cu acela de „eficient" (23). Această prudenţă este de fapt caracteristică în faţa medicamentelor hipolipidemiante, după trista experienţă furnizată de către MER-29 (Triparanol). Astfel, deşi acţiunea hipocolesterolemiantă a colestiraminei a fost semnalată la om încă din anul 1958, pînă în anul 1973, „Administraţia Statelor Unite asupra Alimentului şi Medicamentului" nu a aprobat recomandarea acestui medicament. În anul 1962, Thorp şi Waring comunică rezultate foarte bune în tratamentul hiperlipidemiilor cu clofibrat. Acelaşi for american aprobă medicamentul numai în anul 1967.

Deoarece încă nu s-a descoperit medicamentul hipolipemiant ideal, care să acţioneze în toate formele de HLP, ne aflăm încă într-o perioadă „de căutări". În această situaţie, noi am adoptat prezentarea datelor de certitudine, utile practicianului. În acest sens, am omis deliberat datele experimentale pe animale.

Medicaţia hipolipidemiantă se clasifică în :

1) medicamente care acţionează predominant prin scăderea secvenţei „input" din metabolismul lipidelor şi al lipoproteinelor : acidul nicotinic şi clofibratul ;

2) medicamente care acţionează predominant prin creşterea secvenţei „output" din metabolismul lipidic şi lipoproteinic : colesteramina şi dextrotiroxina.

Acestea sînt de fapt medicamente hipolipemiante „majore". După prezentarea lor de pe poziţiile farmacologiei clinice, vom aborda un grup de medicamente, care deşi au importanţă mai redusă, nu le putem eluda.

X.2. TRATAMENTUL DIETETIC AL STĂRILOR HIPERLIPIDEMIANTE— HIPERLIPOPROTEINEMIANTE

X.2.1. GENERALITĂŢI

Importanţa dietei în cadrul terapiei stărilor HL—HLP este subliniată de numeroase publicaţii (3—8, 140, 141). Eficienţa dietei hipolipidemiante

depinde de tipul HLP, de factorii patogenici recunoscuți, dintre care se vor investiga mai ales cei alimentari și în foarte mare măsură de cooperarea bolnavului.

Determinarea tipului HLP este obligatorie. Ea trebuie să preceadă orice măsură terapeutică. În continuare, este de mare utilitate efectuarea unor teste dietetice prin care să se precizeze rolul patogenetic hiperlipidemiant al lipidelor, glucidelor alimentare sau al alcoolului, Gries și colab. (9) preconizează 5 perioade dietetice, redate în tabelul X.1. Aceste diete test pot fi compuse în felul următor.

Tabelul X.1

Teste dietetice utilizate pentru precizarea unor factori hiperlipidemianți alimentari (după Gries și colab. 9)

Tipul de regim	Durata zile	Proteine	Lipide % din calorille totale	Glucide % din calorille totale	Alcool	Calorii
Perioada inițială	5	Alimentația obișnuită de acasă				izocaloric
Bogat în lipide, sărac în glucide	5—10	15	65—70	15—20	—	izolcaloric
Bogat în glucide, sărac în lipide	10—14	20	10—15	65—70	—	izocaloric
Bogat în alcool	3	10—15	25—30	20—25	30—40	izocaloric
Regim redus	10	20—25	40	35—40	—	hipocaloric

A. REGIM BOGAT ÎN LIPIDE, SĂRAC ÎN GLUCIDE

Dimineața : pîine neagră 32 g, unt 25 g, 1 ou, cafea sau ceai, frișcă 25 g.

Masa intermediară de dimineață: brînză de vaci 100 g, portocale 150 g (cîntărită cu coajă).

Prînz : carne de porc (semigrasă) 102 g, conopidă 250 g, grăsime de gătit 10 g.

Masa intermediară de după-amiază : pîine intermediară (de secară) 16 g, unt 10 g, brînză de vaci grasă 50 g, cafea sau ceai, frișcă 25 g.

Cina : pîine intermediară (secară) 32 g, unt 26 g, mezeluri 50 g, ceai. Acest meniu reprezintă 2 016 calorii, din care 15% (70,8 g) din proteine, 68% (145,5 g) din lipide și 17% (84,6 g) glucide.

B. REGIM BOGAT ÎN GLUCIDE, SĂRAC ÎN LIPIDE

Micul dejun : pîine intermediară 80 g, brînză de vaci slabă 75 g, marmeladă 30 g, cafea sau ceai cu 15 g zahăr.

Masa intermediară de dimineață : pesmet 50 g, băutură preparată din 200 g zer, 20 g zahăr și 10 g suc de lămîie.

Prînz : carne slabă de vițel sau vacă 120 g, mazăre verde 250 g, cartofi 150 g, compot 200 g.

Masa intermediară de după-amiază : pîine intermediară 40 g, marmeladă 30 g, cafea sau ceai cu 15 g zahăr.

Cina : pîine intermediară 80 g, friptură de vițel 50 g, brînză de vaci dietetică (slabă) 75 g (care poate fi ajustată cu condimente după gust), ceai cu 10 g suc de lămîie și 10 g zahăr.

Acest meniu reprezintă 2 022 calorii, din care 19% (93,8 g) din proteine, 12% (26,3 g) din lipide și 69% (339,1 g) din glucide.

C. REGIM MIXT HIPOCALORIC

Dimineața : pîine intermediară 50 g, unt 5 g, brînză de vaci dietetică (degresată) 50 g, 1—2 linguriță de marmeladă săracă în calorii, cafea sau ceai fără zahăr sau lapte.

Masa intermediară de dimineață : mere 100 g.

Prînz : carne de vacă slabă 120 g, cartofi 50 g, zarzavat (conopidă) 300 g ; pentru pregătire se va folosi în total 15 g unt.

Masa intermediară de după-amiază : portocală fără coajă 150 g.

Cina : pîine intermediară 50 g, unt 5 g, mezeluri 45 g, sau brînză cu conținut de 30% grăsime 30 g, cafea sau ceai fără zahăr, sau lapte.

Acest meniu reprezintă 1 007 calorii, din care 22% (52 g) din proteine, 40% (42,4 g) din lipide și 38% (90,3 g) din glucide.

Pe baza testelor dietetice se pot delimita cinci forme de hiperlipidemii :

— hiperlipidemia indusă prin grăsimi ;

— hiperlipidemia indusă prin glucide ;

— hiperlipidemia indusă prin lipide și glucide, respectiv hiperlipidemia indusă prin exces caloric ;

— hiperlipidemia indusă prin alcool ;

— hiperlipidemii care nu pot fi clasificate din punct de vedere dietetic.

În acest moment, dispunem de date relativ suficiente pentru introducerea unei diete strict adaptate bolnavului respectiv.

Înainte de abordarea diferențiată a regimului alimentar în tipurile HLP, vom expune unele noțiuni de dietetică generală, legate în special de regimul hipolipidic și antiaterogen care, de fapt, sînt într-o strînsă legătură.

X.2.2. DIETETICA GENERALĂ

Lactate : laptele smîntînit, iaurtul degresat, brînza de vaci slabă, zerul.

Deși rolul lipidelor și glucidelor alimentare în geneza HL—HLP a fost amintit, revenim cu o serie de noțiuni în special cu implicații în aterogeneză.

O importanţă deosebită s-a acordat în ultimele decenii raporturilor calitative ale acizilor graşi cu aterogeneza, datorită faptului că s-a constatat că în cursul aterosclerozei există o scădere a concentraţiei plasmatice în acizi graşi polinesaturaţi, în timp ce acizii graşi saturaţi sînt deseori găsiţi în concentraţii superioare celor de la individul normal (tabelul X.2.). Alte cercetări au arătat că administrarea de acizi graşi nesaturaţi are ca

Tabelul X.2

Variaţia concentraţiei acizilor graşi în ateroscleroză faţă de normali; valori procentuale (după Mincu — 3)

Acid gras	Subiect sănătos	Ateroscleroză	
		lipemie normală	Hiperlipidemie
Arahidonic	5,16	3,7	2,45
Linoleic	23,98	21,59	17,64
Miristic	1,49	1,57	1,62
Oleic	25,34	26,59	27,45
Palmitoleinic	27,48	28,51	32,15
Stearic	6,63	5,44	6,42
Alţi acizi graşi	3,13	3,68	3,44

efect scăderea lipidelor plasmatice şi că, la om, un regim bogat în asemenea acizi determină scăderea colesterolemiei fără o creştere concomitentă a trigliceridemiei (Mincu, 3). Administrarea acizilor graşi saturaţi ar provoca o creştere a sintezei colesterolice în organism. Acizii graşi polinesaturaţi ar interveni în asigurarea vehiculării normale şi metabolizării colesterolului, în timp ce acizii graşi saturaţi ar asigura sinteza lui. În cazurile în care există o deficienţă relativă sau absolută de acizi graşi polinesaturaţi, colesterolul s-ar esterifica ca acizi graşi saturaţi, sau cu izomerii „nenaturali" ai acizilor graşi esenţiali, acumulîndu-se în diferite ţesuturi.

O carenţă a acizilor graşi nesaturaţi, care să contribuie la aterogeneză, poate fi absolută (deci exclusiv de aport), relativă, endogenă-metabolică sau mixtă. Astfel, concentraţia de 100—150 mg% acizi graşi nesaturaţi (32,5% din NEFA), foarte constantă la individul normal (devieri în plus sau în minus sub 10%), poate reprezenta, la un aport crescut de lipide alimentare, o stare de carenţă relativă de acizi graşi nesaturaţi, dacă lipidele ingerate sînt formate preponderent din acizi graşi saturaţi. După Malmors, spre deosebire de populaţiile în care ateroscleroza este rară (negrii Bantu), regimul europeanului modern nu conţine acizi graşi nesaturaţi în cantitate suficientă pentru a asigura o scădere a colesterolemiei sub nivelul considerat că reprezintă un factor de risc. După acest autor, valori ale colesterolemiei de 250 mg% indică deja o situaţie de risc.

Toate aceste date, împreună cu unele observaţii referitoare la rolul nociv asupra ficatului exercitat de un regim în care grăsimile conţin exclusiv acizi graşi nesaturaţi, au determinat pe nutriţionişti să nu mai recomande creşterea absolută a proporţiei de acizi graşi nesaturaţi din regim, ci, mai ales, reducerea aportului general de grăsimi alimentare. Se indică, astfel, ca normă de siguranţă, ca acizii graşi nesaturaţi să reprezinte

cca. 4% din caloriile ingerate de un adult, ceea ce înseamnă că pentru asigurarea unui aport de 2 500 calorii/zi să se consume cam 12 g acid linoleic. Se admite ca fiind mai recomandabil să se recurgă la acizii graşi polinesaturaţi cu lanţuri de 18 C, decît cu lanţuri de 12—14 C. În tabelul X.3. sînt redate proporţiile de acizi graşi saturaţi, simpli nesaturaţi şi polinesaturaţi, din cîteva dintre alimentele bogate în lipide, consumate în mod uzual.

Tabelul X.3

Conţinutul procentual în acizi graşi saturaţi, simplu nesaturaţi sau polinesaturaţi (în special linoleic) din cîteva alimente grase uzuale (după Mincu — 3)

Aliment	Acizi graşi saturaţi	Acizi graşi simplu nesaturaţi	Acizi graşi polinesaturaţi
Ulei de floarea soarelui	8	27	65
Ulei de soia	14	24	62
Ulei de germeni de porumb	17	32	51
Ulei de măsline	19	73	8
Grăsime din lapte	61	36	3
Grăsime de porc	43	49	8
Seu de vită	54	43	3
Seu de oaie	54	43	3

În concluzie, se poate spune că, în prezent, nu există încă probe indiscutabile care să impună punctul de vedere conform căruia ateroscleroza ar fi datorată în mod specific şi exclusiv unui dezechilibru exogen, endogen sau mixt de acizi graşi nesaturaţi, liberi sau esterificaţi. Administrarea lor pentru asigurarea menţinerii homeostaziei lipidice, dacă aceasta se aplică păstrînd limitele echilibrului fiziologic din hrană, trebuie să se facă astfel încît să nu se potenţeze prin exces eventualele lor efecte nefavorabile.

X.2.3. INDICAŢII DIETETICE ÎN STĂRILE HIPERLIPIDEMIANTE — HIPERLIPOPROTEINEMIANTE CORELATIV CU PROFILAXIA ATEROSCLEROZEI

A. CONŢINUTUL LIPIDIC AL REGIMULUI

Reducerea cantitativă a consumului de grăsimi este o indicaţie valabilă chiar şi pentru indivizii mai tineri. Un aport de 60—80 g lipide pe zi este suficient. Se va avea în vedere însă că există un conţinut lipidic invizibil în numeroase alimente, cum sînt, de exemplu : laptele, ouăle, brînzeturile, carnea, peştele, mezelurile, păsările etc. Din această cauză, cifrele de mai sus se vor corecta în sensul că dacă admitem pînă la 80 g lipide pe zi, grăsimea vizibilă să nu depăşească 40 g (Schmidt). Aceasta înseamnă a permite o componentă lipidică a regimului de aproximativ 30% din totalul caloriilor admise.

Se impune, de asemenea, o selecţie de ordin calitativ. Se va acorda precădere grăsimilor vegetale (uleiuri din diferite plante). Motivul constă în prezenţa acizilor graşi nesaturaţi în proporţie mare în aceste grăsimi şi

în sărăcia lor în colesterol, ceea ce le diferenţiază net de grăsimile de origine animală. Desigur că eliminarea totală a untului din alimentaţie este greu de realizat, dar ea trebuie să fie un obiectiv permanent. Fără îndoială că se poate înlocui untul cu unele margarine, preparate din uleiuri vegetale.

Dintre uleiurile vegetale se vor folosi uleiuri de in, floarea-soarelui, de soia, de germeni de grîu sau de porumb.

Untdelemnul de măsline sau de rapiţă nu face parte din grupa uleiurilor indicate în aceste regimuri. Se va căuta să se elimine toate celelalte grăsimi animale, ca untura, slănina sau seul.

Trebuie să se ţină seama de restricţiile cantitative şi pentru uleiurile bogate în acizi graşi nesaturaţi, utilizate uneori ca un antidot al aterosclerozei, întrucît folosirea lor în exces înseamnă, de fapt, o alimentaţie hipercalorică la fel de nefastă ca şi abuzul de grăsimi saturate.

În legătură cu margarina trebuie spus că în procesul de solidificare al uleiurilor vegetale din care este formată, se produce o hidrogenare a acizilor graşi, ceea ce îi scade substanţial componenta de acizi graşi nesaturaţi şi o apropie de caracteristicile untului. Dintre grăsimile solide la temperatura uzuală ea este preferabilă untului, chiar dacă această recomandare s-ar referi numai la îmbogăţirea ei în timpul fabricării.

Pentru ca uleiurile vegetale să-şi păstreze toate calităţile ar fi de dorit să fie utilizate ca atare, deci fără să fie supuse acţiunii căldurii, care le degradează. Există posibilitatea de a se găti aproape toate alimentele în asemenea condiţii şi dacă la aceasta se adaugă preferinţa pentru pregătirea cărnii la grătar sau în vase cu *Teflon* şi a legumelor prin metoda „à la grecque" se evită cele mai importante surse de grăsimi modificate prin prăjire.

B. CONŢINUTUL GLUCIDIC AL REGIMULUI

Acidul glucidic trebuie prescris ţinîndu-se seama, ca şi pentru lipide, de considerente de ordin cantitativ şi calitativ.

Din punct de vedere cantitativ, glucidele nu vor reprezenta mai mult de 40—50% din aportul caloric total al unei zile.

Alegerea pîinii are, de asemenea, o mare importanţă. Se va prefera pîinea integrală din care se va recomanda o cantitate de 200—250 g/zi, repartizată la diversele mese ale zilei. Cozonacii şi alte aluaturi trebuie să apară numai ocazional în regim şi atunci se va da preferinţă celor preparate la domiciliu, fiindcă cele din comerţ conţin cantităţi neprecizate de grăsimi de origine necontrolabilă.

Cu puţin untdelemn se pot face aluaturi foarte gustoase, mai digestibile şi corespunzătoare scopului regimului prescris. Se vor evita torturile şi prăjiturile cu creme preparate cu unt.

Preparatele din griş, fulgi de ovăz, orez, paste făinoase, vor fi consumate cu moderaţie, din cauza pericolului de îngrăşare, atunci cînd se folosesc din abundenţă. Este recomandabil să fie preparate fără zahăr.

Referitor la cartofi, o cantitate de 150—200 g/zi, trebuie considerată suficientă. Se va da preferinţă cartofilor fierţi, copţi, piureurilor, evitin-

du-se modurile de preparare care cer folosirea unor cantităţi mari de grăsime (de exemplu, cartofi prăjiţi).

Se vor prescrie din abundenţă legumele şi zarzavaturile, de preferinţă ca salate proaspete, nesupuse acţiunii căldurii, care distruge unele componente vitaminice ale lor. Ele vor aduce şi substanţele reziduale preţioase pentru indivizii mai în vîrstă la care există aproape totdeauna o tendinţă la constipaţie. Se vor evita, eventual, vegetalele care produc meteorism, ca: varză albă şi roşie, guliile, fasolea uscată etc. Dealtfel, folosirea mazării, a fasolei uscate, a lintei trebuie limitată şi din cauza aportului caloric mare pe care-l realizează. Este recomandabil ca cel puţin două mese din cursul zilei să conţină legume şi zarzavaturi preparate conform indicaţiilor de mai sus.

Fructele se vor permite în proporţia dorită, de preferinţă proaspete, compoturi sau piureuri, eventual marmelada. Celelalte preparate (peltea, dulceţuri, şerbeturi etc.) sînt mult prea bogate în zahăr pentru a fi indicate în mod regulat.

C. CONŢINUTUL PROTEINIC AL REGIMULUI

Restul de aproximativ 20—25% din aportul caloric zilnic se va acoperi prin proteine, asigurîndu-se echilibrul fiziologic între aportul de proteine animale şi vegetale. Produsele folosite vor fi alese şi preparate însă astfel încît să nu constituie, în acelaşi timp, o îmbogăţire în lipide. De aceea, dintre tipurile de carne se va folosi carnea slabă de vacă, viţel, oaie şi, cît mai rar, carnea slabă de porc. Se vor mai recomanda cărnurile de pasăre slabe şi de vînat slab (iepure, căprioară, mai rar mistreţ). Dintre viscere, singurele folosibile sînt plămînii, toate celelalte fiind bogate în grăsimi. Dintre preparatele de carne se pot recomanda, cu moderaţie, crenvurştii, parizerul, şunca foarte slabă fiartă.

La prepararea cărnii, înaintea frigerii, se va îndepărta orice grăsime vizibilă şi se va prefera grătarul, friptura înăbuşită sau folosirea vaselor cu *Teflon*. Se vor evita sosurile de smîntînă, precum şi înpănarea cărnii cu slănină.

Dintre peşti se vor evita speciile grase : crapul, heringul verde, ţiparul. Nu se recomandă folosirea afumăturilor, marinatelor, conservelor, scrumbiilor sărate etc.

Ouăle, care sînt de asemenea bogate în proteine, conţin şi cantităţi remarcabile de colesterol, astfel încît consumarea lor se va restrînge la 2—4 pe săptămînă. Albuşul nu este inclus în restricţie. Se pot prepara şi maioneze dietetice din gălbenuşurile permise, folosind uleiurile recomandate mai sus.

În fine, produsele lactate reprezintă, de asemenea, o sursă importantă de proteine. Se va recomanda, pe cît posibil, laptele smîntînit sau iaurtul preparat din el, dar şi laptele integral se va putea permite într-o cantitate medie de 500 ml/zi. Nu se vor folosi caimacul, frişca şi smîntîna ca atare, iar dintre brînzeturi se va da preferinţă brînzei de vaci slabe. Dintre celelalte brînzeturi se vor recomanda numai cele care au un conţinut de grăsime sub 30% în substanţa uscată.

D. ALTE ALIMENTE

Alte alimente asupra cărora va trebui să se facă anumite restricţii sînt reprezentate de ciocolată, cacao, băuturile alcoolice, în special vinurile şi lichiorurile dulci.

Cafeaua merită o menţiune specială, datorită posibilităţii creşterii lipoproteinelor, colesterolului total şi a acizilor graşi liberi din circulaţie sub influenţa ei. Se recomandă 1—3 linguriţe cafea pulbere/zi, sau 1—2 linguriţe produs solubilizat pregătită cu zahăr puţin sau zaharină.

Consumarea cafelei este indicată după masă (dimineaţa sau la prînz). Este bine să nu se asocieze cu fumatul, deoarece se pare că acţiunea lor hiperlipidemiantă este potenţată reciproc.

Omul zilelor noastre, pentru care „cafeaua şi ţigara" reprezintă un cuplu nedisociabil şi una din marile plăceri cotidiene, trebuie să cunoască acest lucru. Bolnavului cu HL—HLP i se recomandă interzicerea folosirii lor sau cel mult folosirea separată.

Sînt recomandabile sucurile de fructe, de legume, amestecurile de lapte cu sucuri de legume sau de fructe, laptele bătut, iaurtul degresat, ceaiurile.

Dintre condimente se vor prefera plantele aromatice, ca : mărarul, pătrunjelul, arpagicul, leuşteanul, romaniţa, tarhonul, fiindcă aduc, de asemenea, vitamine, precum şi alte aromatice ca frunzele de dafin, scorţişoară, cimbrul, chimenul etc. În cantităţi mici se pot folosi piperul sau boiaua.

Pentru acrire se va întrebuinţa nelimitat sucul de lămîie, oţetul sau zeama de varză murată fără sare.

E. APORTUL CALORIC GLOBAL

Aportul caloric global va fi calculat după greutatea individului, în raport cu vîrsta, sexul, tipul constituţional, precum şi cu munca pe care o prestează. Se va avea în vedere că necesitatea calorică pentru o activitate sedentară este de 30—35 calorii/kilocorp, în caz de muncă fizică moderată de 35—40 calorii. La individul cu ateroscleroză declarată clinic, aportul caloric va fi, oricum, limitat în jurul a 30 calorii/kilocorp. La indivizii la care se presupune existenţa unei predispoziţii la ateroscleroză este recomandabilă reducerea cu aproximativ 10% a cifrelor standard ale caloriilor permise.

Suplimentarea regimului cu vitamine sau administrarea de alimente cu conţinut bogat în vitaminele B_6, E etc. poate fi recomandată în anumite perioade ale anului.

Se mai preconizează în special la obezii al căror plus ponderal este mai mare de 30%, o cură de „0 calorii" (7—14 zile), urmată de regimul hipolipidemiant propriu-zis. Aceasta presupune internarea bolnavului. Alţi autori (8) propun în condiţii ambulatorii introducerea unui regim proteic şi vegetarian pentru o perioadă de 2—3 săptămîni, urmată de asemenea de regimul hipolipidemiant propriu-zis.

Scanned with OKEN Scanner

X.2.4. REGIMUL DIETETIC ÎN DIFERITE TIPURI DE HIPERLIPOPROTEINEMII

A. REGIMUL ÎN HIPERLIPOPROTEINEMIA TIP I

Caracteristicile dietei sînt :
— Normo- sau hipocaloric (în obezitate) ;
— Normoprotidic ;
— Normoglucidic [1]
— Hipolipidic [2]
— Bogat în vitamina A.

Lapte și derivate : lapte degresat, iaurt degresat, brînză de vaci slabă.

Carne și pește : carne slabă de vacă, vițel, iepure, căprioară ; pește slab, șalău, știucă, lin, lipan, lostriță, biban ș.a. (se pregătesc fierte în apă, înăbușite, la grătar, nasol). Interzise : cărnurile grase de orice fel, mezelurile, viscerele, afumăturile, conservele, peștele gras.

Ouă : se permite albușul preparat sub diverse forme : fiert, spume, sufleuri, bezele, zdrențe la supă. Se pot permite 1—2 gălbenușuri pe săptămînă, înlocuind carnea în cantitate echivalentă din punctul de vedere al conținutului în lipide.

Pîine : se preferă cea intermediară sau integrală (200—250 g/zi) rece, veche de o zi, pîinea de secară, covrigii cu sare.

Făinoase. Permise : grișul, fulgii de ovăz, orezul, făina pentru legarea sosurilor.

Interzise : porumbul, meiul, pastele făinoase preparate cu ouă.

Legume : Permise : cartofii (fierți, copți, piureuri), morcovii, spanacul, loboda, lăptucile, castraveții, roșiile, ardeii, fasolea verde, mazărea verde, vinetele, conopida, varza acră (se vor prepara ca salate, piureuri, fierte „à la grecque").

Interzise : fasolea uscată, mazărea uscată, lintea, varza de Bruxelles, țelina, ridichile, ciupercile, guliile (care produc meteorism).

Fructe : Permise toate (exceptînd pe cele interzise), ca sucuri proaspete, salate, coapte, piureuri, compoturi.

Interzise : smochinele, curmalele, migdalele, nucile, alunele, arahidele.

Dulciuri : Permise : budinci (fără smîntînă), tarte cu fructe, bezele, spume de albuș, mereng, orez cu lapte degresat, gelatine cu brînză de vaci slabă sau cu fructe, spumă de griș, creme de amidon fără ou.

Interzise : toate preparatele cu ou, cremele, înghețatele, foitajele, prăjiturile cu nuci, migdale, alune (nuga, marțipan) ciocolata, dulciurile concentrate, prăjiturile preparate cu grăsime.

Grăsimi : maximum 1—2 linguriță ca uleiuri vegetale în completarea rației de lipide permisă (la salate crude).

În cazul utilizării trigliceridelor cu lanț mediu se poate utiliza o cantitate mai mare dacă bolnavul le suportă.

Interzise : toate grăsimile animale și cele modificate prin încălzire.

Băuturi : permise : apele minerale, ceaiurile, sucurile de fructe și legume (cele permise), mustul.

Interzise : băuturile alcoolice sub orice formă, ceaiul de mentă.

Scanned with OKEN Scanner

Sodiu, permis în cantitate normală (dacă nu sînt alte contraindicaţii).

Vitamine, din fructe şi legume. Se va asigura aportul de vitamina A din morcovi, creson, spanac, caise, zmeură, afine şi, eventual, se va completa parenteral.

Condimente. Permise aromatele : mărar, pătrunjel, tarhon, leuştean, dafin, cimbru, nucşoară, piper, boia, muştar, oţet, vanilie, scorţişoară, chimen, ceapă etc.

Supe. Permise : bulionul degresat de carne sau de peşte slab la care se poate adăuga puţin orez fiert ; supele-creme de legume, supele limpezi de legume, borşul de perişoare.

Interzise : supele cu rîntaş, supele de carne grasă sau de peşte gras, toate supele sau ciorbele care conţin adaosuri prăjite, conservele de supe.

Sosuri. Permise numai cele preparate dietetic, fără grăsime (se pot lega cu puţină făină).

Interzise : toate sosurile preparate cu rîntaş, grăsime de orice fel, maionezele, şofranul etc.

Orarul meselor : 5—6 pe zi (carnea şi legumele vor fi repartizate la cel puţin două mese, iar pîinea se va repartiza la toate mesele).

Indicaţii speciale:

1. În cazul regimului hipocaloric (obezitate) se va limita aportul de glucide.

2. Cantitativ, poate fi normolipidic, în cazul folosirii trigliceridelor cu lanţ mediu, dacă sînt bine tolerate (eventual la copii).

B. REGIMUL ÎN HIPERLIPOPROTEINEMIA TIP II A

Caracteristicile dietei: — Normo- sau hipocaloric (în obezitate).

— Normoprotidic.
— Normo- sau hipoglucidic.
— Hipolipidic.
— Hipocolesterolemiant

Lapte şi derivate : lapte smîntînit, iaurt degresat, brînză de vaci slabă.

Carne şi peşte : carne slabă de vacă, viţel, găină slabă fără piele. Peşte slab : lin, şalău, ştiucă, biban, lostriţă, lipan (pregătite fierte, fripte, înăbuşite fără grăsime).

Interzise : cărnurile grase, viscerele de orice fel, mezelurile, peştele gras, conservele.

Ouă : numai albuşul este permis în diferite preparate (zdrenţe la supă, fiert, spume, bezele, mereng ş.a.

Interzis : gălbenuşul sub orice formă.

Pîine : este permisă cea integrală, intermediară, veche de o zi, covrigi.

Făinoase : Permise : grişul, orezul, fulgii de ovăz, făina pentru legat sosurile.

Interzise : porumbul, pastele făinoase cu ou, meiul.

Legume. Permise : spanacul, loboda, lăptucile, roşiile, mazărea verde, fasolea verde, conopida, varza, cartofii, morcovii (fierte, ca piureuri, înă-

bușite sau ca salate) la care se vor folosi uleiuri bogate în acizi grași polinesaturați, în cantitățile permise).

Interzise : leguminoasele uscate, țelina, gulia, ridichiile, ciupercile, varza de Bruxelles.

Fructe : Permise toate, cu excepția : smochinelor, curmalelor, migdalelor, nucilor, alunelor, arahidelor (proaspete, coapte, ca piureuri sau ca sucuri de fructe).

Dulciuri. Permise cele preparate din albuș (spume, bezele, mereng, biscuiți de albuș), tarte cu fructe, gelatine cu fructe, orez cu lapte degresat, spumă de griș, chisel de fructe.

Interzise : toate preparatele cu ou, înghețatele, cremele cu unt, frișcă, foitajele, prăjituri preparate cu fructe oleaginoase, ciocolata, dulciurile concentrate.

Grăsimi. Se permit margarina și uleiurile bogate în acizi grași polinesaturați sub formă crudă, în completarea rației lipidice, la salate.

Interzise : untul, seul, slănina, untura și, în general, toate grăsimile bogate în acizi grași saturați.

Băuturi. Permise : ape minerale, ceaiuri (afară de cel de mentă), sucuri de fructe și de legume.

Interzise : băuturile alcoolice sub orice formă, ceaiul de mentă.

Sodiu : Normal (dacă nu sînt alte contraindicații).

Vitamine. Din fructele și legumele permise. Eventual se vor suplimenta parenteral (mai ales cele liposolubile).

Condimente. Permise toate aromatele : mărar, pătrunjel, tarhon, dafin etc., piperul, boiaua, muștarul, oțetul ș.a.

Supe. Bulionul degresat, din carne sau de pește slab : supele-creme de legume, supele limpezi de legume, borș cu perișoare dietetice ș.a.

Interzise : toate supele sau ciorbele cu carne grasă sau cu alte grăsimi, rîntașuri, supele conservate.

Sosuri. Permise numai cele preparate dietetic, fără grăsime (se pot lega cu făină).

Interzise : rîntașurile de orice fel, maionezele ș.a.

Orarul meselor : 5—6 pe zi.

Indicații speciale:

1. Rația lipidică variază în funcție de toleranța individului. (Poate fi mărită către valorile normale în cazul utilizării uleiurilor bogate în acizi grași polinesaturați).

2. Aportul de colesterol prin alimente se va reduce la cca. 50—150 mg/zi.

3. În formele homozigote, regimul va fi mai sever decît în cazul heterozigoților.

C. REGIMUL ÎN HIPERLIPOPROTEINEMIA TIP III ȘI II B

Caracteristicile dietei.

— Normo- sau hipocaloric (în obezitate asociată).

— Normoprotidic.

— Hipolipidic.
— Normo- sau hipoglucidic.
— Hipocolesterolemiant.

Lapte și derivate: lapte smîntînit, iaurt degresat, brînză de vaci slabă.

Carne și pește: carne slabă de vită, vițel, găină slabă fără piele.

Pește slab: lin, șalău, știucă, biban, lostriță (preparate fierte, înăbușite, fripte la grătar sau ca perișoare dietetice).

Interzise: cărnurile grase, rața, gîsca, peștele gras, viscerele, mezelurile, moluștele, conservele.

Ouă: Permis numai albușul în preparate (spume, bezele, biscuiți, sufleuri etc.).

Interzis gălbenușul.

Pîine. Integrală, intermediară, veche de o zi (eventual limitarea ei în cazul aportului caloric redus).

Făinoase. Permise: grișul, fulgii de ovăz, făina pentru legarea sosurilor.

Interzise: porumbul, pastele făinoase cu ou.

Legume: Permise — cartofii (în limita glucidelor permise), morcovii (idem), spanacul, loboda, castraveții, roșiile, vinetele, conopida, dovleceii, ardeii, mazărea verde, fasolea verde etc. (preparate ca salate, piureuri, fierte înăbușite).

Interzise: leguminoasele uscate, ridichile, țelina, ciupercile, guliile (care produc meteorism).

Fructe: Permise toate, cu excepția celor interzise.

Interzise: alunele, migdalele, nucile, arahidele, smochinele, curmalele, strugurii.

Dulciuri: Permise cele preparate cu albuș sau fructe (în afara celor interzise), papanași fierți, budinci, spumă de griș, chișel de fructe, gelatină.

Interzise: cele preparate cu unt, frișcă, smîntînă, untură și ou, ciocolata, prăjiturile din nuci, alune, migdale.

Grăsimi. Permise: margarinele și uleiurile bogate în acizi grași polinesaturați (în cantitatea lipidelor admise în rație).

Interzise: toate grăsimile bogate în acizi grași saturați (unt, smîntînă, slănină, untură, seu etc.).

Băuturi. Permise: apele minerale, sucurile de fructe și legume, ceaiurile, laptele ecremat.

Interzise: toate băuturile alcoolice.

Sodiu. Normal (dacă nu sînt alte contraindicații).

Vitamine. Din alimentele permise (eventual se vor suplimenta parenteral cele aduse insuficient prin rație).

Condimente. Permise toate aromatele: mărar, pătrunjel, tarhon, cimbru, dafin, piperul, boiaua, muștarul, oțetul, sucul de lămîie ș.a.

Sosuri. Permise numai cele preparate dietetic, fără grăsime tratată termic.

Orarul meselor: 5—6 pe zi.

Scanned with OKEN Scanner

Indicații speciale:

1) Proporția de lipide poate fi mărită dacă se folosesc uleiurile bogate în acizi grași polinesaturați.

2) Se vor limita glucidele în cazurile care necesită un regim hipercaloric, în limita caloriilor permise.

3) Se pot da 1—2 gălbenușuri pe săptămînă în preparate, înlocuind cantitatea echivalentă în lipide, de carne.

4) În HLP tip II B, ineficiența acestui regim va fi urmată de introducerea dietei recomandată în HLP tip II A (5).

D. REGIMUL ÎN HIPERLIPOPROTEINEMIA TIP IV

Caracteristicile dietei:

Normo- sau hipocaloric (în obezitate).
— Normoprotidic.
— Normolipidic.
— Hipoglucidic.

Lapte și derivate. Permise: laptele sub diverse forme (proaspăt, bătut, iaurt), brînzeturi (de vaci, telemea, caș ș.a.).

Carne și pește. Permise: carnea de vacă, viței, pasăre, vînat. Peștele de diverse specii (preparat fiert, înăbușit, fript, rasol etc.).

Ouă. Permise: proaspete, fierte sau preparate dietetic.

Pîine. Se va da în cantitate limitată (în funcție de cantitatea de glucide permisă), intermediară, veche de o zi.

Făinoase. Interzise (eventual se vor da în completarea rației de glucide permisă, dar limitat).

Legume. Permise cele cu 5% glucide: varza, conopida, sparanghelul, lăptucile, spanacul, păpădia, ștevia, andivele, ardeii grași, vinetele, dovlecii, bamele, castraveții, fasolea verde, roșiile.

Interzise cele cu conținut glucidic ridicat: morcovii, cartofii, ceapa, prazul, sfecla, țelina, varza de Bruxelles, leguminoasele uscate, hreanul etc. (vor putea fi permise numai în cantitate limitată, în completarea rației de glucide admisă).

Fructe. Permise în cantitate limitată, în funcție de cantitatea totală de glucide: pepenele verde, coacăzele, portocalele, grepuri, mandarinele, lămîile, afinele, merele, cireșele timpurii.

Interzise: strugurii, prunele, bananele, curmalele, smochinele, perele pergamotte etc.

Dulciuri. Permise cele preparate cu ou, fructele permise (spume, gelatine, bezele, înghețate ș.a.), preparate fără zahăr (cu zaharină).

Interzise toate dulciurile concentrate sub orice formă: dulcețuri, prăjituri, torturi etc.

Grăsimi. Permise în limite normale cu păstrarea unui raport normal între grăsimile bogate în acizi grași saturați și cele bogate în acizi grași polinesaturați, sub formă de unt, smîntînă, uleiuri vegetale (de preferință sub formă proaspătă).

Interzise: grăsimile modificate prin tratament termic.

Scanned with OKEN Scanner

Băuturi. Permise : ape minerale, ceaiuri (cu zaharină), sucuri de fructe şi legume permise, lapte.

Interzise : alcoolul sub orice formă.

Sodiu. Normal (dacă nu sînt alte contraindicaţii).

Condimente. Permise aromatele : mărar, pătrunjel, leuştean, tarhon, dafin, cimbru, chimen, piper ş.a.

Interzise : usturoiul, ceapa, hreanul, ţelina.

Vitamine. Din alimentele permise.

Supe. Bulion de carne, de peşte, supe din legumele permise, ciorbe de diferite legume permise, borş cu perişoare (preparate dietetic — ca în diabet) etc.

Sosuri. Numai cele preparate dietetic (fără făină) şi fără grăsime prăjită sau ceapă prăjită.

Orarul meselor : 5—6 pe zi.

Indicaţii speciale:

1. Cînd este necesară reducerea aportului caloric al raţiei, se va limita cantitatea de lipide.

2. În general, se preferă glucidele cu moleculă mare (amidon) celor din grupa dulciurilor concentrate (dar în limita toleranţei la glucide).

E. REGIMUL ÎN HIPERLIPOPROTEINEMIA TIP V

Caracteristicile dietei:

— Hipocaloric (mai ales în cazul de obezitate).
— Normoprotidic.
— Hipoglucidic.
— Hipolipidic.

Lapte şi derivate. Lapte degresat, iaurt degresat, brînză de vaci slabă.

Carne şi peşte. Carne slabă de vacă, viţel, pasăre (găină fără piele). Peşte slab (lin, biban, şalău, ştiucă, lostriţă) fiert, fript, rasol, perişoare dietetice.

Ouă. Albuşul fără restricţie, fiert sau în diverse preparate.

Gălbenuşul (2—3 pe săptămînă), de obicei în preparate.

Pîine. În cantitate limitată (în funcţie de toleranţa la glucide), intermediară, neagră, veche de o zi.

Făinoase. În cantitate limitată (după toleranţa la glucide).

Legume. Permise cele cu conţinut de 5% glucide : conopida, sparanghelul, lăptucile, spanacul, păpădia, ştevia, andivele, andeii graşi, vinetele, bamele, castraveţii, fasolea verde, roşiile.

Interzise cele cu conţinut glucidic ridicat : morcovii, sfecla, cartofii, ţelina, ceapa, prazul, varza de Bruxelles, leguminoasele, hreanul etc. (vor putea fi permise numai în cantitate limitată în funcţie de toleranţa la glucide.

Fructe. Permise în funcţie de toleranţa la glucide : pepenele verde, coacăzele, portocalele, lămîile, mandarinele, grepfruituri, merele, cireşele timpurii.

Interzise : strugurii, prunele, perele bergamotte, curmalele, smochinele, nucile, alunele, migdalele, arahidele.

Dulciuri. Permise cele preparate din albuș (spume, bezele, mereng etc. cu zaharină), gelatină din brînză de vaci sau fructe, înghețată din fructe ș.a.

Interzise toate dulciurile concentrate sub orice formă : prăjiturile preparate cu nuci, migdale, arahide, cremele cu frișcă, unt, ou, foitajele, ciocolata etc., zahărul.

Grăsimi. Se vor limita numai pentru completarea rației lipidice admise (stabilită pentru fiecare individ) sub formă de uleiuri vegetale adăugate la salate, crude.

Interzise : untul, smîntîna, frișca, untura, slănina, grăsimea de pasăre ș.a.

Băuturi. Permise apele minerale, ceaiurile, sucurile de fructe și legumele permise, laptele smîntînit.

Interzise : toate băuturile alcoolice sub orice formă.

Sodiu. Normal (dacă nu sînt alte contraindicații).

Vitamine. Din alimentele permise. Eventual suplimentare parenterală a celor furnizate insuficient prin rație (mai ales cele liposolubile).

Condimente. Permise aromatele (mărar, pătrunjel, leuștean, dafin, cimbru, tarhon), piper, oțet, suc de lămîie.

Se vor evita : ceapa, usturoiul, hreanul.

Supe. Se vor prepara din legumele permise supe-creme, supe limpezi, bulion degresat din carnea permisă sau de pește slab, borș de perișoare preparate dietetic.

Sosuri. Permise numai cele preparate dietetic, fără ceapă prăjită, fără grăsime și fără făină.

Orarul meselor : 5—6 pe zi.

Indicații speciale. În acest tip de HLP, influența dietetică este redusă.

La oricare dintre bolnavii cu HLP tip I—V, obezi, se poate indica cură de cruditați 2 zile/săptămînă timp de 3 luni.

X.2.5. APLICAREA PRACTICĂ A MĂSURILOR DIETETICE EDUCAȚIA ȘI CONTROLUL BOLNAVILOR

Trebuie făcută distincție între rigurozitatea regimului alimentar care se impune bolnavilor în perioada în care lipidele și lipoproteinele plasmatice sînt crescute și perioada de „normalizare metabolică". În acest ultim caz, este vorba de menținerea parametrilor lipidici în limite normale.

În ambele circumstanțe sînt necesare măsuri de educație sanitară și de control periodic riguros. Colaborarea medic-bolnav trebuie să fie perfectă, medicul neprecupețind nici un efort pentru cîștigarea încrederii bolnavului. Nu este suficient să oferim pacienților tabele și scheme de

regim, ci trebuie avut, cu ocazia fiecărui control, contacte verbale directe, atît cu bolnavul, cît şi cu soţia (soţul) acestuia. Cooperarea soţiei este de mare importanţă în succesul dietei, la fel ca şi înţelegerea soţului pentru eventuala schimbare din tipul alimentaţiei impusă de o soţie bolnavă.

Controlul pacienţilor trebuie efectuat, la început, la intervale de 3 săptămîni, apoi din ce în ce mai distanţat, ajungînd la 3 luni interval în cazurile în care medicul este convins de conştiinciozitatea şi seriozitatea bolnavului. Controlul va cuprinde nu numai investigarea parametrilor umorali, ci şi un dialog cu bolnavul, condus cu abilitate şi din care să rezulte capacitatea acestuia de a-şi calcula caloriile necesare sau de a-şi întocmi meniurile corespunzătoare. Acest lucru apare ca foarte util în special la începutul sezoanelor care corespund cu schimbarea tipurilor de alimentaţie.

La început, calculul necesarului caloric, lipidic şi glucidic, compunerea meniurilor se face de către medic şi asistenta dieteticiană împreună cu bolnavul şi eventual soţia lui. Pacientul va trebui, în continuare, să dispună la domiciliu de tabelele anexe pentru a-şi modifica eventual meniurile.

Faptul că 60% din bolnavii cu HL-HLP, aflaţi în dispensarizarea Clinicii de boli de nutriţie şi metabolism din Bucureşti, sînt menţinuţi în „echilibru metabolic" numai prin regim alimentar, este un argument imbatabil în favoarea deosebitei sale utilităţi.

Rezultate similare sînt comunicate şi din studiile prospective efectuate în Oslo (137), California (138) şi Japonia (140, 141), vizînd rolul dietei în profilaxia aterosclerozei.

X.2.6. UTILIZAREA TRIGLICERIDELOR CU LANŢURI MIJLOCII

Un loc aparte în clasa lipidelor îl ocupă trigliceridele cu lanţuri mijlocii, adică esterii glicerolului cu acizii graşi cu 8 şi 10 atomi de carbon (acidul caprilic şi acidul caproic). Aceste forme de trigliceride sînt studiate mai ales în ultimii ani, în legătură cu rolul lor terapeutic în dietetică (10—14).

Trigliceridele cu lanţ mediu sînt mai puţin răspîndite, în natură (fiind în majoritate preparate sintetice), cele mai multe extrase din uleiul de cocos. Au punctul de fuziune între —8°C şi —10°C şi conţin 75% acid caprilic şi 20—25% acid caproic. Nu au grupuri hidroxil libere şi nici duble legături. Au o moleculă mică, fapt ce le face mai solubile în mediul apos. Absorbţia lor intestinală este deosebită de cea a trigliceridelor cu lanţ lung, întîlnite de obicei în alimentaţie. Au o mare digestibilitate, fapt ce le face resorbabile mai rapid. Sînt hidrolizate în intestin mai rapid şi mai complet decît trigliceridele cu lanţ lung (11—12) datorită unei lipaze intestinale care este de zece ori mai activă decît cea care acţionează asupra ultimelor (14). Lipaza pancreatică acţionează de 5 ori mai rapid pe aceste trigliceride, deoarece, avînd o talie mică, ele oferă o suprafaţă mai mare pentru activitatea enzimatică, în unitatea de timp. Pe de altă parte,

2-monogliceridele cu lanț mediu se izomerizează rapid în 1-monogliceride. Acest fapt, care nu este posibil la formele cu lanț lung, permite o hidrolizare lipazică completă (se știe că eficiența lipazei pancreatice este de 50—100 de ori mai mare pentru legăturile situate în poziția 1—3 decît pentru cele situate în poziția 2) (13). Rezultă astfel că în intestin, în timp ce trigliceridele cu lanț lung sînt hidrolizate complet într-o proporție mai mică de 40%, cele cu lanț mediu sînt hidrolizate în proporție mai mare de 80% (13).

De remarcat și faptul că hidroliza acestor trigliceride nu are nevoie de prezența bilei.

Reabsorbția lor din lumenul intestinal prin mucoasă este de asemenea mult mai rapidă, fapt dealtfel strict legat de hidroliza intraluminală a trigliceridelor. Cînd această hidroliză este incompletă, trigliceridele cu lanț mediu pătrund în celulele mucoasei. Trecerea prin bariera opusă de mucoasă nu necesită decît o difuziune moleculară.

Se pare că trigliceridele cu lanț mediu au o acțiune inhibitoare în absorbția celor cu lanț lung. Totuși, administrate concomitent, măresc resorbția de grăsimi din intestin.

În celula mucoasă, aceste trigliceride se găsesc în proporție de peste 90% sub formă de acizi grași liberi. Chiar cînd sînt absorbiți sub forma de trigliceride, în mediul interior pătrund tot sub forma acizilor grași. Acest fapt se datorește, unui echipament enzimatic intracelular.

Se știe că în prezența ATP-ului și Mg^{2+} acizii grași cu lanț lung sint reesterificați la nivelul celulei mucoasei intestinale, în aciltioli activați de CoA. Acizii cu lanț scurt și mediu nu suferă această acțiune. Pe de altă parte, trigliceridele cu lanț mediu sînt hidrolizate total sub acțiunea unei lipaze diferită de lipaza pancreatică (13). Întrucît nu sînt reesterificați in trigliceride, ei nu iau parte la formarea chilomicronilor.

Pentru motivele arătate, trigliceridele cu lanț mediu pot fi folosite în alimentația indivizilor cu atrofie vilozitară, la cei cu abeta-lipoproteinemie sau în tulburările de metabolism periferic ale chilomicronilor.

Trecerea în circulație a acizilor grași cu lanț scurt și mediu este deosebită de cea a acizilor grași cu lanț lung. Primii merg pe cale portală, iar ultimii pe cale limfatică. În sîngele portal circulă sub formă legată de albuminele plasmatice (13). Pentru acest motiv se pot indica în bolile care produc obstacole limfatice, ca : limfosarcomul, boala Whipple etc.

Ajunși la celule, acizii grași cu lanț mediu constituie un substrat energetic deosebit de important (8,3 cal/kilocorp). Degradarea lor are loc în ficat (fig. X.1.) pe trei căi metabolice, și anume :

1) Oxidarea cu formare de CO_2 și energie (este cu atît mai rapidă cu cît lanțul este mai scurt).

2) Cetogeneza : corpii cetonici apar în sîngele suprahepatic, atît la omul normal, cît și la cel cu diabet, imediat după ingerarea acestor grăsimi ; dispare cînd se dă concomitent și zahăr. Această cetogeneză arată că există o acumulare de acetil-CoaA.

3) Elongația și sinteza acizilor cu lanț lung ; a fost observată în ficat, după administrarea acestor grăsimi. Nu se știe pe ce cale are loc această sinteză.

Administrarea trigliceridelor cu lanț mediu în alimentație are și alte consecințe metabolice, și anume : duce la o creștere ușoară a insulinemiei, mai mare dacă se administrează împreună cu glucoza sau dacă se administrează la ciroticii cu anastomoză portocavă. S-ar putea ca acest fapt să se datorească prezenței corpilor cetonici, crescuți chiar și la individul normal, sau a unor hormoni ai mucoasei digestive (11, 13).

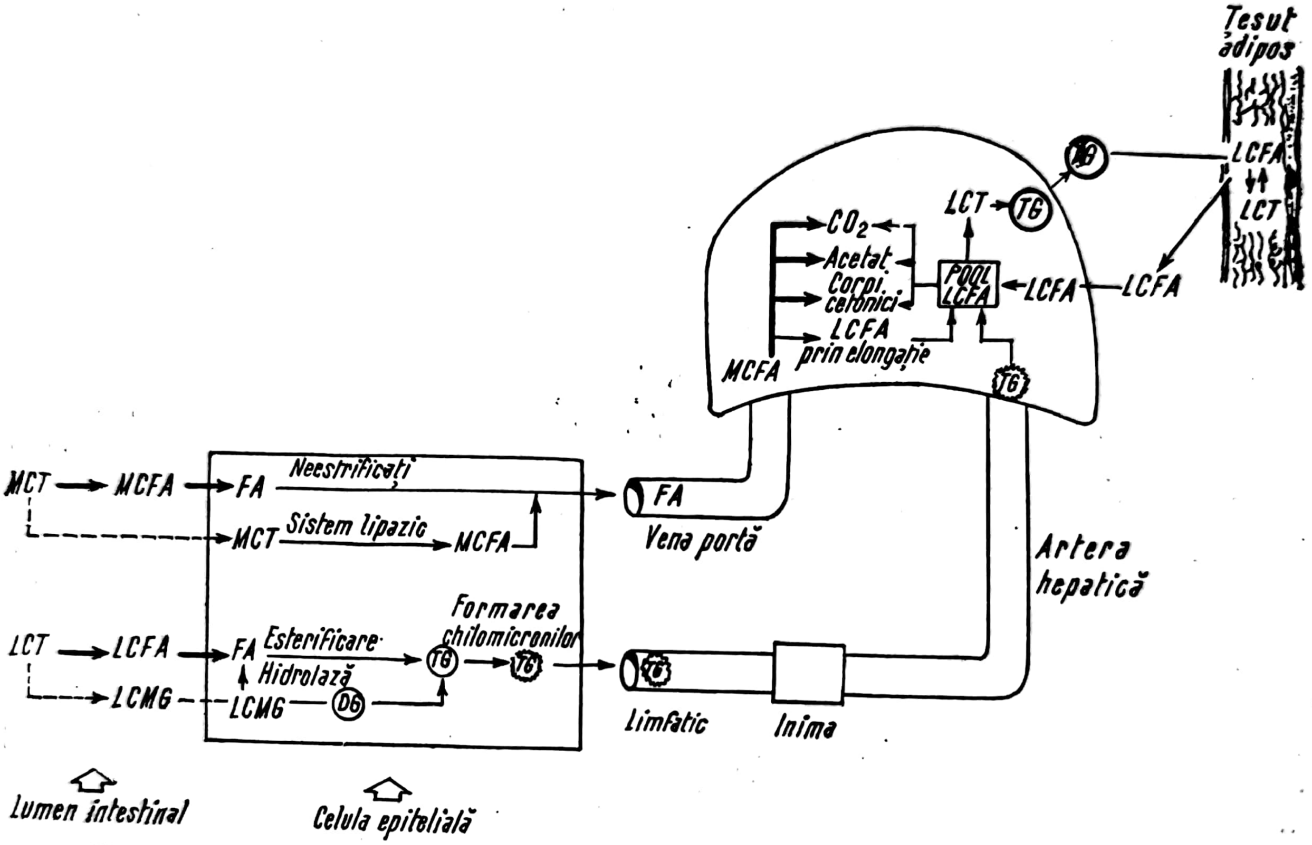


Fig. X.1. — Metabolismul trigliceridelor cu lanț mediu după Grunberger și Skillman (11).

MCT — trigliceride cu lanț mediu ; MCFA — acizi grași cu lanț mediu ; LCT — trigliceride cu lanț lung ; LCFA — acizi grași cu lanț lung ; LCMG — monogliceride cu lanț lung ; DG — digliceride.

Acizii grași cu lanț mediu, ca și cei cu lanț lung, inhibă captarea periferică a glucozei. Totuși, administrați intravenos scad glicemia, probabil prin diminuarea cantității de glucoză la nivelul ficatului. De asemenea, scad colesterolul plasmatic.

La denutriți cresc trigliceridemia bazală (KUO). În hiperlipemiile endogene induse de glucide nu scad trigliceridemia. Lipogeneza hepatică nu numai că nu este diminuată, dar este chiar exagerată. Trigliceridele de rezervă nu conțin prea mulți acizi grași cu lanț mediu, indiferent de cantitatea acestora în alimentație. Utilizate în tratamentul HLP tip I, se remarcă efectul lor de scădere a trigliceridelor serice datorită împiedicării formării chilomicronilor în intestin (10).

Am insistat asupra metabolismului acizilor grași cu lanț mediu datorită faptului că aceștia încep să aibă un rol terapeutic în unele stări patologice, ca : malabsorbția grăsimilor, reducerea suprafețelor absorbtive, obstrucțiile limfatice etc. Ei pot fi considerați ca alimente dietetice sau alimente medicament (3).

X.3. COLESTIRAMINA

X.3.1. GENERALITĂŢI

Colestiramina este o răşină schimbătoare de ioni, bifazică, compusă dintr-un polimer *stirendivinilbenzen,* la care se ataşează grupurile cuaternare de amoniu (grupuri de schimb). Se întrebuinţează de regulă sarea de clor a răşinei, insolubilă în apă, care în intestin, schimbă clorul cu acizii biliari. Aceştia se vor elimina prin fecale în timp ce clorul se absoarbe (15—18).

Preparatele de colestiramină utilizate sînt : Questran, Quemid, Cholestyramine (15).

X.3.2. MECANISM DE ACŢIUNE

Colestiramina se întrebuinţează în tratamentul stărilor HL-HLP, datorită efectului hipocolesterolemiant şi de reducere a concentraţiei LDL plasmatice (4, 7, 15—19).

Modul său de acţiune este următorul : prin schimbul intestinal clor ⇄ acizi biliari, urmat de creşterea eliminării prin fecale a acestora, se produce de fapt întreruperea circuitului lor enterohepatic. Aceasta are ca efect creşterea sintezei hepatice de acizi biliari, creştere obţinută prin amplificarea catabolismului colesterolului. Este adevărat că, colesterolosinteza hepatică creşte (prin mecanism de tip *feed-back),* dar efectul general este creşterea turnoverului colesterolului şi al LDL (20), cît şi scăderea nivelului lor seric. Afectarea metabolismului VLDL este incertă (7, 15-19). În ultimă instanţă este vorba de apariţia unui dezechilibru în metabolismul colesterolului şi LDL în care secvenţa „output" este mai mare decît secvenţa „input".

X.3.3. INDICAŢII, POSOLOGIE, EFICACITATE

Indicaţia de bază a tratamentului cu colestiramină este HLP tip II A. În tipul II B este de asemenea de mare eficienţă, în special în combinaţie cu clofibratul.

Dozele de administrare sînt de 12 g/24 h, repartizate în 3 prize, ingerate cu apă, după mesele principale. Dacă toleranţa este bună, se poate creşte doza pînă la 24 g/24 h, administrată în 4—5 prize. Doze mai mari (30—36 g/24 h) nu pot fi acceptate decît pentru intervale scurte. Durata tratamentului este de săptămîni, luni sau ani.

Unul din cele mai convingătoare studii (studiu dublu-orb) asupra eficacităţii colestiraminei este cel efectuat de echipa de la Centrul Clinic din Bethesda (20). Se comunică cu acest prilej acţiunea hipocolesterolemiantă şi de scădere a LDL plasmatice, obţinută încă după prima săptă-

mînă de tratament. Este vorba de bolnavi cu HLP familială tip II A menţinuţi la regimul dietetic amintit în capitolul X.2.

Dispariţia stigmatelor cutanate se obţine după un tratament de lungă durată (15).

X.3.4. EFECTE ADVERSE, PRECAUŢII, CONTRAINDICAŢII

Efectele adverse ale colestiraminei sînt : constipaţia, greţuri, vărsături, balonare. În urma dozelor mari, administrate îndelungat, apare malabsorbţia grăsimilor neutre şi a vitaminelor liposolubile. Combaterea lor se face prin reducerea dozelor şi prin medicaţie simptomatică. Ele nu constituie motive de întrerupere a terapiei.

Un efect advers mult mai rar este întîlnit la copii, unde apare acidoza hipercloremică.

Terapia cu colestiramină trebuie efectuată cu precauţie în caz de sarcină sau existenţa sindromului bilio-obstructiv.

Unele medicamente (fenilbutazona, anticoagulantele cumarinice, digitala, tiroxina) sînt „legate" în intestin de către colestiramină şi eliminate prin fecale. Aceasta reduce eficacitatea lor. În consecinţă, se impune schimbarea căii de administrare a preparatelor de mai sus.

În cazul tratamentului de lungă durată se recomandă administrarea unor doze mici de vitamina A, pentru a suplini astfel tulburările de absorbţie consecutive colestiraminei.

X.4. CLOFIBRATUL

X.4.1. GENERALITĂŢI

Clofibratul este esterul etil al acidului para-clorofenoxiizobutiric (etil-CPIB). Preparatele comerciale se numesc clofibrat, atromid, miscleror, regelan. Administrat pe cale orală se absoarbe rapid şi uniform în tractul gastrointestinal. Concentraţia maximă în sînge este obţinută după 4 ore. Eliminarea prin urină sub formă de glicuronid se produce după 10—14 ore (7, 16—18, 24). În acest interval, acidul CPIB este repartizat în sectorul extracelular, legat de proteine. Nu a fost evidenţiat la nivelul muşchilor, ţesutului adipos, inimii, bilei, lichidului cefalorahidian (24).

X.4.2. MECANISM DE ACŢIUNE

Clofibratul scade nivelul seric al beta-VLDL (ILDL), VLDL şi LDL, avînd deci efect hipotrigliceridemiant şi hipocolesterolemiant (63—75, 145). Mecanismul său intim de acţiune nu este elucidat în întregime. Unele fapte sînt însă certe. Hipocolesterolemia se obţine prin scăderea

LDL serice. Se cunoaşte acţiunea CPIB asupra următoarelor secvenţe din metabolismul colesterolului :

— inhibă transformarea hidroximetilglutaril-CoA în mevalonat (25). Prin aceasta blochează colesterolosinteza hepatică şi intestinală ;

— creşte eliminarea prin bilă şi fecale a sterolilor acizi şi neutri (25, 26).

Hipotrigliceridemia se obţine prin scăderea VLDL şi ILDL, datorită următoarelor acţiuni :

— scade secreţia hepatică a VLDL (28) ;

— scade nivelul AGL serici (29) ;

— reduce sinteza trigliceridelor (30), crescînd şi catabolismul lor (31).

Este greu de imaginat astăzi cum se intercondiţionează aceste efecte. Oricum, în final, se produce un dezechilibru prin care secvenţa „output" este mai mare decît secvenţa „input", în special în metabolismul VLDL şi mai puţin în metabolismul LDL şi beta-VLDL.

Există foarte multe presupuneri referitor la mecanismul de acţiune al CPIB. Iniţial, Thorp (32) a lansat atrăgătoarea ipoteză a „hipertiroidismului hepatic şi hipotiroidismului sistemic" ca efecte directe ale CPIB. Medicamentul ar acţiona la nivelul ficatului prin desfacerea tiroid-binding-globin (TBG) în L-tiroxină şi L-triiodotironină, produşi care de fapt ar fi adevăraţii agenţi hipolipemianţi. Aşa se explică eficienţa redusă a CPIB în hipotiroidism.

Recent, D. Costa (144) evidenţiază efectul CPIB, de inhibiţie a adenil-ciclazei, la nivelul ţesutului adipos uman, consecutiv căruia scade cAMP intraadipocitar. Urmarea este depresia lipolizei şi deci reducerea concentraţiei AGL serici. În felul acesta, scade aportul precursorilor TG-VLDL în ficat. Efectul CPIB de scăderea concentraţiei serice a VLDL s-ar putea explica şi pe această cale (fig. X.2).

Alte efecte ale CPIB se referă la (24, 33) :

— scăderea fibrinogenemiei şi a adezivităţii plachetare, concomitent cu creşterea activităţii fibrinolitice ;

— reduce uricemia ;

— scade glicemia şi insulinemia, atît la normo- cît şi la hiperlipoproteinemici (tip II, III, IV) (34). Mecanismul prin care intervine în insulinosecreţie nu se cunoaşte, dar oricum, evidenţierea acestui efect este un pas important în efortul elucidării acţiunii hipolipemiante a CPIB ;

— creşte cetogeneza (35), concomitent cu reducerea glicogenului hepatic şi creşterea căii GNG ;

— ameliorează circulaţia periferică, aşa cum a demonstrat Zelis şi colab. (35 b), la bolnavi cu HLP tip III trataţi de 3—6 luni cu clofibrat. De-a lungul acestei observaţii, viscozitatea sîngelui scade cu 30%, iar hiperemia reactivă postischemică creşte de la $20,4 \pm 1,6$ la $31,9 \pm 1,1$ ml/min/100 g.

Scanned with OKEN Scanner

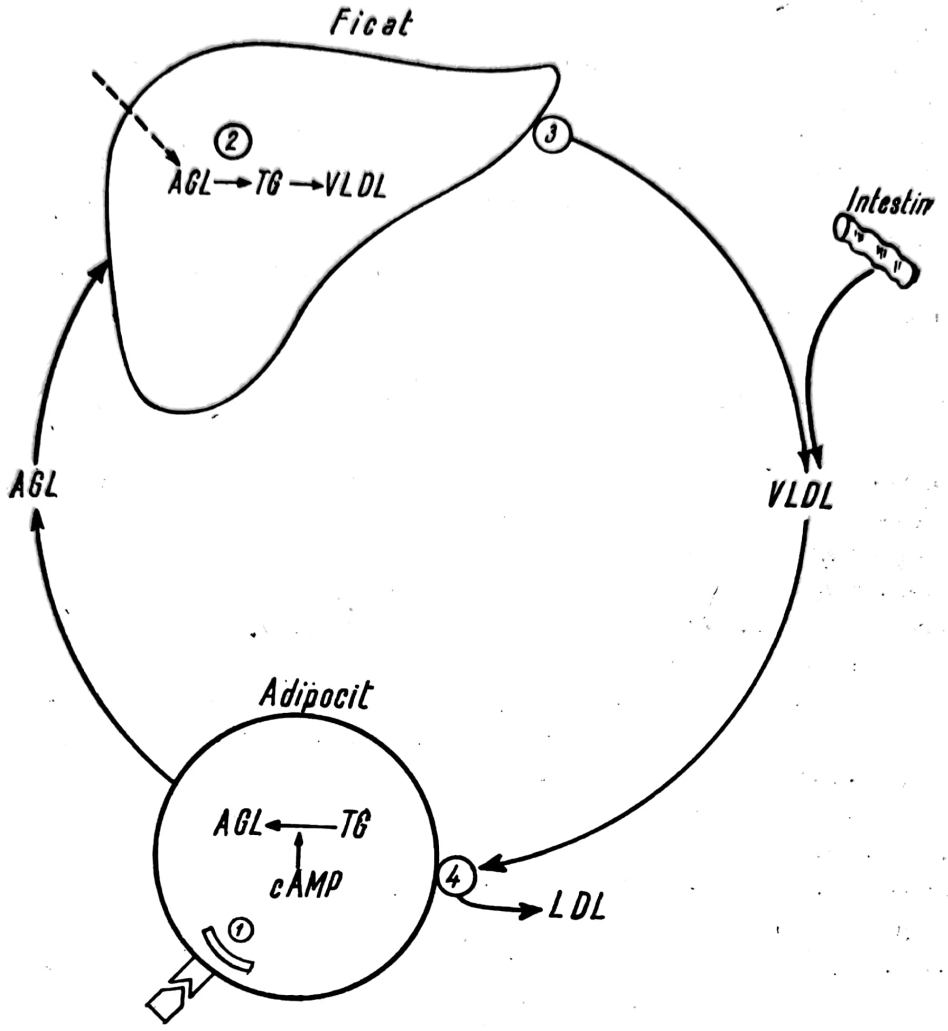


Fig. X. 2. — Efectul hipolipemiant al clofibratului : depresia lipolizei (1), scăderea reesterificării AGL în hepatocit (2) reducerea secreției de VLDL (3) creșterea catabolismului VLDL (4) (după D'costa și Angel — 144).

X.4.3. INDICAȚII, POSOLOGIE, EFICACITATE

Datorită efectelor sale, CPIB este indicat în :
— tratamentul HLP tip III, IV, II B și uneori V ;
— prevenirea și tratamentul retinopatiei și neuropatiei diabetice ;
— prevenirea emboliilor grase (24).

Preparatul CIF se prezintă sub formă de capsule gelatinoase, care conțin 0,25 g 2-p-clorofenoxi-izobutirat de etil.

Tratamentul se începe cu doze mici, de 4 capsule în 24 ore, administrate după masă, dar care se măresc treptat, astfel încît în decurs de 30 de zile să atingem doza de 1,5—2 g/24 ore. Aceasta va fi menținută timp de 3—4 luni. După o pauză de 2—3 săptămîni, tratamentul va fi reluat și continuat în funcție de rezultatele obținute. Se citează cazuri de terapie foarte prelungită (6—8 ani).

Scanned with OKEN Scanner

Eficiența terapiei este netă în formele recomandate mai sus. Atît trigliceridele, cît și colesterolul plasmatic scad, dar trebuie cunoscut faptul că uneori efectul nu apare decît după cîteva săptămîni, alteori luni, de la începutul terapiei.

Se menționează (37) că în timpul tratamentului HLP tip IV cu CPIB, la 1/3 din bolnavi se obține normalizarea spectrului lipoproteinic seric. La alți bolnavi se remarcă, paralel cu scăderea VLDL serice, creșterea HDL și LDL serice.

Efectul favorabil al CPIB este marcat și prin regresiunea evidentă a stigmatelor tegumentare.

X.4.4. EFECTE ADVERSE, PRECAUȚII, CONTRAINDICAȚII

În timpul tratamentului cu CPIB pot apărea următoarele efecte adverse, dependente sau nu de doză și durata administrării (7, 16—18, 24) :

— grețuri și inapetență ;

— creșterea moderată în greutate, fără retenție hidrică ;

— creșterea moderată a activității transaminazei glutamoxalacetice și creatinfosfokinazei serice ;

— rareori apare leucopenie, agranulocitoză, alopecie, creșterea iritabilității ventriculare, *rash* tegumentar, sindrom muscular (dureri musculare, crampe, scăderea forței musculare).

Întreruperea tratamentului sau reducerea dozelor se impune în funcție de intensitatea tabloului clinic.

Deoarece potențează efectul cumarinelor, doza acestora va fi redusă, iar coagulograma atent controlată în timpul tratamentului cu CPIB.

Sînt observații care atestă creșterea conținutului în colesterol al bilei, în timpul terapiei cu CPIB. În felul acesta, bila are un potențial litogen amplificat. Faptul că la un bolnav cu HLP tip III, în urma terapiei cu CPIB, se evidențiază litiază biliară nediagnosticată anterior, ridică întrebarea dacă nu cumva „prețul" plătit pentru terapia hipolipidemiantă este litiaza biliară, tot așa cum în cazul terapiei cu acizi biliari în scop litolitic, „prețul" este hiperlipidemia și favorizarea aterosclerozei coronare (136).

CPIB este contraindicat în sarcină și insuficiența hepatică și renală.

În ciuda acestor fenomene, clofibratul se consideră ca avînd o foarte bună toleranță.

X.5. DEXTROTIROXINA

X.5.1. GENERALITĂȚI

Dextrotiroxina sau D-tiroxina, este sarea sodică a tetraiodotironinei (D-3, 5, 3′, 5′-tetraiodotironina), care se găsește ca preparate comerciale sub formă de Choloxin, Dethirona (7, 16—18, 38) și Dynothel (39). D-tiroxina reprezintă de fapt rezultatul optim pentru momentul actual în cău-

tarea hormonului tiroidian cu efecte hipolipidemiante. Este adevărat că şi L-tiroxina posedă această acţiune la fel ca şi extractul total de tiroidă (41), însă datorită efectelor sale secundare, nu sînt de preferat în faţa D-tiroxinei.

X.5.2. MECANISM DE ACŢIUNE

Efectul cel mai important al D-tiroxinei este reducerea nivelului plasmatic al LDL, fiind, deci, hipocolesterolemiantă (7, 16—18, 38). Mecanismul intim de acţiune nu este cunoscut. Se ştie doar că D-tiroxina, spre deosebire de L-tiroxină, se concentrează la nivelul ficatului (18), unde produce creşterea catabolismului colesterolului şi a excreţiei sale prin bilă, crescînd concomitent şi sinteza colesterolului (mecanism *feed-back*), dar efectul final este probabil dezechilibrul în care secvenţa „output" este mai mare decît secvenţa „input" din metabolismul colesterolului şi LDL.

Asupra beta-VLDL şi VLDL efectul este incert.

X.5.3. INDICAŢII, POSOLOGIE, EFICIENŢĂ

Indicaţia majoră a terapiei cu D-tiroxină este HLP tip II a. Uneori poate fi eficientă şi în HLP tip II b sau III.

Se administrează pe cale orală, doza iniţială fiind de 1—2 mg/24 h. După 3—4 săptămîni poate fi crescută treptat cu 1 mg/lună pînă la 4—8 mg/24 h cu care, în funcţie de toleranţă, se poate continua timp de luni sau ani (7, 18).

Eficienţa este maximă în HLP tip II a şi îndoielnică în HLP tip II b sau III. Efectul se manifestă prin reducerea colesterolului seric şi dispariţia treptată a stigmatelor tegumentare.

X.5.4. EFECTE ADVERSE, PRECAUŢII, CONTRAINDICAŢII

Efectele adverse care apar în timpul terapiei cu D-tiroxină sînt :

— scăderea toleranţei la glucoză ;
— neutropenie ;
— alterarea unor teste de funcţionalitate hepatică (18) ;
— la bolnavii care anterior aveau simptomatologie de cardiopatie ischemică, s-a observat creşterea mortalităţii sau agravarea tabloului clinic în cazul tratamentului cu D-tiroxină ;
— fenomene de hipertiroidism.

Administrarea este contraindicată la orice bolnav la care există simptome, semne, sau tablou electrocardiografic de cardiopatie ischemică. Hipertiroidismul şi sarcina sînt alte două circumstanţe de interdicţie terapeutică cu D-tiroxină.

Datorită potenţării acţiunii cumarinelor, terapia asociată cu aceste medicamente trebuie însoţită de precauţiile necesare. Reducerea dozei de

Scanned with OKEN Scanner

anticoagulant și investigarea coagulogramei. În diabetul zaharat, administrarea D-tiroxinei se va suprima dacă parametrii de investigare a metabolismului glucidic o impun.

X.6. ACIDUL NICOTINIC

X.6.1. GENERALITĂȚI

Începînd cu anul 1955, se comunică primele rezultate favorabile în tratamentul hiperlipidemiilor cu acid nicotinic. Astăzi se cunosc multe preparate care au la bază această substanță ; literatura asupra efectului lor este, de asemenea, extrem de numeroasă ; acțiuni noi i se descoperă, așa încît se pare că ne găsim în fața unuia dintre cele mai active medicamente uzitate în tratamentul stărilor HL-HLP.

Preparatele comerciale mai cunoscute sînt : Nicalex, Roniacol, Complamin, Cosaldon. Lista lor este însă extrem de lungă. În mod neîndoielnic există deosebiri între ele, atît în ceea ce privește efectul major asupra metabolismului lipidic și lipoproteinic, cît și efectele secundare. Se știe astfel cu destulă precizie că amida acidului nicotinic nu are efecte hipolipemiante, spre deosebire de acidul nicotinic și sărurile sale (7, 16, 18, 42).

X.6.2. MECANISM DE ACȚIUNE

Efectul major al acidului nicotinic la om, administrat cronic, este reducerea nivelului plasmatic al AGL, TG, colesterolului, VLDL, LDL și beta-VLDL (ILDL).

Literatura explicativă a acestor efecte este deosebit de bogată (7, 16—18, 42).

Acțiunea imediată a acidului nicotinic se manifestă la nivelul țesutului adipos, unde produce inhibiția lipolizei trigliceridelor, avînd drept consecință scăderea AGL-miei. Se pare că acest efect este dependent de prezența grupului carboxil liber care scade CAMP, explicîndu-se astfel de ce nicotinamidei îi lipsește această proprietate.

Inhibiția lipolizei de către acidul nicotinic este dovedită la subiecți normolipemici în condiții nocturne sau diurne, cît și la hiperlipemici în diverse circumstanțe clinice.

Concomitent cu afectarea lipolizei, acidul nicotinic crește activitatea LPL și amplifică captarea de către țesutul adipos a acizilor grași rezultați din hidroliza trigliceridelor chilomicronilor sau a VLDL.

La cîteva ore de la administrare, apar alte efecte : datorită scăderii aportului de AGL spre ficat, scade sinteza TG-VLDL, concomitent cu reducerea secreției lor de către ficat.

Scanned with OKEN Scanner

După un interval de cîteva zile, scade şi nivelul plasmatic al LDL şi beta-VLDL (ILDL) dacă acestea erau iniţial scăzute. Efectul se explică astfel :

— fie ca un fenomen secundar scăderii VLDL ;

— fie ca o consecinţă a afectării metabolismului colesterolului. Este vorba în acest caz de inhibiţia sintezei sale prin blocarea etapei beta-hidroxi-beta-metilglutaril-CoA → acid mevalonic, probabil prin depresia HMG-CoA-reductazei. Totodată, s-a demonstrat efectul acidului nicotinic de stimulare a oxidării colesterolului în mitocondrii. Oricum, prin reducerea secvenţei „input" şi amplificarea secvenţei „output", bilanţul colesterolului devine negativ.

Studiile vizînd cinetica VLDL şi LDL în urma tratamentului cu acid nicotinic, confirmă datele de mai sus, atestînd marea eficienţă hipolipidemiantă a preparatului.

X.6.3. INDICAŢII, POSOLOGIE, EFICIENŢĂ

Prin acţiunile sale polisecvenţiale, vizînd metabolismul lipidic şi lipoproteinic, acidul nicotinic este indicat în tratamentul HLP tip IV, III, II B, II A şi uneori în tipul V (7, 16—18, 42). Acţiunea sa în HLP tip I este mai mult decît îndoielnică (42).

Calea de administrare este de cele mai multe ori orală. Dozele variază astfel :

— iniţial se administrează 3×100 mg/24 h, după masă ;

— doza de întreţinere fiind de 3×1—2 g/24 h ;

— creşterea dozei se face progresiv cu 300 mg/24 h la fiecare 4—7 zile interval.

Se pare că toleranţa preparatelor retard este mult mai bună. În cazul utilizării lor, ritmul administrării se modifică în funcţie de concentraţia tabletei.

Durata tratamentului este de luni sau ani.

Eficienţa acidului nicotinic este deosebită în HLP tip IV, III ; în HLP tip II B şi II A, efectul său este remarcabil în timp ce în HLP tip V eficienţa este inconstantă (7, 16—18, 42). Concomitent cu scăderea lipidelor şi lipoproteinelor plasmatice, asistăm şi la regresiunea plăcilor ateromatoase vizibile radiografic, sau a stigmatelor dermatologice.

X.6.4. EFECTE ADVERSE, PRECAUŢIE, CONTRAINDICAŢII

În timpul tratamentului cu acid nicotinic, pot apărea următoarele efecte adverse (7, 16—18, 42) :

— scăderea toleranţei la glucide, hiperuricemie şi chiar crize de gută ;

— afectarea unor teste care explorează funcţionalitatea hepatică (sindromul umoral al citolizei hepatice), dar care revin la normal, chiar în cursul tratamentului ;

— potenţarea incertă a unor factori de coagulare ;

— efecte gastrointestinale datorate în parte hiperacidității : grețuri, vărsături, diaree ;

— prurit și flasch tegumentar : aproximativ 85% din bolnavi prezintă aceste acuze care dispar după 10—14 zile de la începerea tratamentului. Datorită inhibiției colesterologenezei tegumentare pielea poate deveni uscată. Se citează cazuri extrem de izolate de apariție a edemelor maleolare în timpul terapiei cu acid nicotinic.

Aceste efecte adverse impun următoarele precauții în utilizarea acidului nicotinic :

— diabet zaharat, gută, hepatopatii ;

— ulcer gastroduodenal, unde de fapt este menționată chiar ca o contraindicație relativă.

X.7. ALTE MEDICAMENTE HIPOLIPIDEMIANTE

Acest grup de medicamente, spre deosebire de cele discutate pînă acum, se deosebește de acestea, fie prin faptul că acțiunea lor hipolipidemiantă este redusă, fie că au efecte secundare care împiedică administrarea lor îndelungată, fie că sînt încă în curs de experimentare clinică. Iată motive suficiente pentru a le trata într-o manieră rezumativă.

X.7.1. SITOSTEROLUL (PHYTOSTEROLUL)

Sitosterolul este o emulsie de steroli vegetali a căror formulă este asemănătoare cu a colesterolului. La nivelul intestinului inhibă sinteza colesterolului, avînd un efect hipocolesterolemiant net, accentuînd probabil și catabolismul LDL (16, 17, 18, 76).

Este indicat în tratamentul HLP tip II A în doze de 10—15 g/24 h. Eficiența este, se pare, bună.

Uneori produce diaree, grețuri, vărsături.

X.7.2. COLESTIPOLUL

Este un preparat asemănător cu colestiramina, avînd deci efect preponderent asupra LDL și colesterolemiei. Indicațiile și efectele adverse sînt asemănătoare cu cele discutate la colestiramină (18, 76).

X.7.3. ACIZI ACETICI DE SUBSTITUIRE

Hiposterolul (acidul fenil acetic, phenyl-ethyl-acetamida) și normosterolul (tetra-ethyl-pentaeritrolul) (16) intervin în diferite etape de sinteză ale colesterolului, privind efectele hipocolesterolemiante și de reducere a beta-lipoproteinelor. Ar fi deci indicate în HLP tip II A.

Scanned with OKEN Scanner

X.7.4. ESTROGENII ŞI ANDROGENII

Anumite preparate estrogenice şi androgenice au rol hipolipidemiant (18), însă efectele lor secundare nu permit o administrare de lungă durată. Astfel, o condiţie de bază a terapiei hipolipidemiante nu se poate satisface, şi anume administrarea de lungă durată. Iată motivele pentru care utilizarea lor în acest scop este în scădere.

X.7.5. HEPARINA

Efectele heparinei asupra metabolismului TG-VLDL, TG-CHILO au fost discutate. Datorită administrării ei intravenoase, cronicizarea tratamentului este o problemă dificilă. Noile preparate care permit administrarea subcutană, rezolvă parţial problema.

Credem că heparina are indicaţia de elecţie în hiper-TG majore, care sînt un real factor de risc vascular. Ar fi chiar o „urgenţă lipidologică" în special la bolnavii cu diagnosticul preexistent de cardiopatie ischemică (preinfarct — în concepţia lui White). În astfel de cazuri, administrarea timp de 2—3 săptămîni este extrem de eficientă. În acest interval se începe tratamentul şi cu celelalte medicamente hipolipidemiante majore (acid nicotinic, CPIB), care au nevoie de o perioadă de latenţă pentru apariţia efectului (23).

Un efect hipotrigliceridemiant bazat tot pe stimularea activităţii LPL are şi *Dextranul*. Administrarea în cure cronice este însă practic imposibilă (77). Hipocolesterolemia care apare în timpul infuziilor cu Dextran (Reomacrodex) este probabil secundară scăderii VLDL.

X.7.6. FOSFOLIPIDELE ESENŢIALE

Lipostabilul este prototipul preparatului bazat pe fosfolipide esenţiale. Se administrează intravenos sau pe cale orală, în cure cronice. Deşi din punct de vedere teoretic, acţiunea sa hipolipidemiantă este justificată, efectele spectaculoase se lasă aşteptate. Vlaicu şi colab. (16) evidenţiază efectul hipocolesterolemiant al lipostabilului, concomitent cu scăderea adezivităţii plachetare şi creşterea activităţii fibrinolitice.

X.7.7. PREPARATELE DE CALCIU

Administrarea orală a diferitelor preparate de calciu se însoţeşte de scăderea colesterolului plasmatic (78). Acţiunea se datoreşte inhibiţiei absorbţiei sale la nivelul intestinului. Nu se observă efecte asupra trigliceridelor serice.

Scanned with OKEN Scanner

X.7.8. VITAMINA C

Se află în stadiu de experimentare efectul hipotrigliceridemiant al vitaminei C, care s-ar datora stimulării activității LPL. Secundar, scade și colesterolul seric. Datorită interferării acidului ascorbic, în diferite secvențe ale metabolismului parieto-arterial, se prevăd efecte favorabile în profilaxia și tratamentul aterosclerozei (79, 80).

X.7.9. PREPARATE PE BAZĂ DE IOD

Sărurile de iod se utilizează de mulți ani în tratamentul aterosclerozei. Iodul stimulează procesele de catabolism colesterolic, avînd deci efect hipocolesterolemiant (16). Totuși, eficiența redusă și efectele sale secundare, îi reduc mult aplicabilitatea în tratamentul stărilor HL-HLP.

X.7.10. NEOMICINA

Administrată pe cale orală (0,5—2 g/24 h), neomicina are efect hipocolesterolemiant și reduce nivelul LDL plasmatice (18). Efectul este datorat inhibiției absorbției intestinale a acizilor biliari cu care formează complexe, ulterior eliminate prin fecale. Oto- și nefrotoxicitatea neomicinei îi reduc mult din aplicabilitate.

X.7.11. BIGUANIDELE

Pe lîngă indicația lor majoră de tratament în diabetul zaharat, preparatele de biguanide s-au dovedit a avea efect hipocolesterolemiant și hipotrigliceridemiant. Această acțiune se explică astfel (85—99) :

— inhibiția sintezei colesterolului și trigliceridelor ;

— inhibiția lipolizei de la nivelul țesutului adipos (efect incert) ;

— stimularea activității LPL (100) ;

— ameliorarea toleranței la glucide prin scăderea căii GNG, hiperinsulinismului, creșterea *clearance*-ului periferic al insulinei.

Concomitent, biguanidele cresc activitatea fibrinolitică și scad adezivitatea plachetară. Inhibă apetitul și produc o reducere ponderală treptată.

Biguanidele au indicație, în special, în tratamentul HLP din diabetul zaharat. Cercetările lui Gligore, Hîncu și colab. demonstrează eficiența sa în special în diabetul zaharat cu HLP tip II B și IV. Alți autori utilizează biguanidele în tratamentul bolnavilor nediabetici cu ateroscleroză, la care efectul lor hipolipidemiant este net (101, 102). Se administrează diferite preparate în doze cunoscute : Silubin (butil-biguanide), Glucophage și Meguan (dimetil-biguanide), Fenformin, Dibotin (feniletil-biguanide). De mare eficiență sînt preparatele retard.

X.7.12. ALTE PREPARATE

Efectul hipolipidemiant al acidului para-aminosalicilic (PAS) (81), al unor medicamente asemănătoare clofibratului, sau al diazepamului (83) sînt în curs de experimentare, motiv pentru care se citează în scop pur informativ. Preparatele anabolizante (Etilnandrol) cu efect hipolipidemiant sînt reactualizate mai ales de cînd s-a demonstrat eficiența lor în profilaxia primară a aterosclerozei (139).

X.8. CULTURA FIZICĂ

X.8.1. GENERALITĂȚI

Regimul crescut de activitate fizică este recunoscut azi ca un mijloc de profilaxie și tratament al aterosclerozei și manifestărilor sale clinice, a obezității și stărilor HL-HLP.

Rațiunea indicației culturii fizice este, pe de o parte, creșterea consumului caloric și, deci, crearea unui bilanț caloric negativ, iar pe de altă parte, inducerea unor modificări metabolice tisuloumorale specifice.

Se cunosc două metode prin care se poate realiza creșterea regimului de activitate fizică :

— cultura fizică medicală (CFM) (exercițiul fiizic, antrenament sub strictă supraveghere medicală) ;

— cultură fizică liberă (exercițiul fizic și antrenament la liberă alegere).

Fiecare din acestea dispun de nenumărate posibilități de realizare.

X.8.2. MECANISME DE ACȚIUNE

Practicarea culturii fizice este însoțită de scăderea TG predominant, și a colesterolului seric alături de modificarea VLDL și mai puțin a LDL. Aceste efecte se explică prin condiționarea de către cultura fizică a unor mecanisme complexe. Pentru discutarea lor trebuie invocate legile bilanțului energetic uman și rolul lipidelor în menținerea lui, cinetica și modificarea metabolismului tisular și umoral.

O sinteză a datelor din literatură ne oferă următorul aspect (103—117).

Exercițiul fizic are ca efect imediat scăderea AGL, datorită creșterii efluxului lor din patul vascular. Urmează o reascensiune a concentrației AGL, drept consecință a hiperlipolizei trigliceridelor din țesutul adipos, mecanism declanșat prin intermediul catecolaminelor. Concomitent, apar modificări tisulare importante vizînd metabolismul lipidic :

— scăderea sintezei de TG în țesutul adipos ;

— modificarea activității enzimelor răspunzătoare de oxidările musculare ale corpilor cetonici și a acizilor grași ; drept consecință trigliceridele vor scădea în ambele țesuturi ;

— activitatea LPL este exacerbată, crescînd astfel secvența „output" a metabolismului TG-VLDL și a chilomicronilor. Unii autori contestă acest efect al efortului fizic (143) ;

— sinteza și secreția TG-VLDL la nivelul ficatului este redusă.

Se semnalează și modificări ale metabolismului lipidic sau glucidic în funcție de tipul hranei care a precedat efortul fizic.

Modificările plasmatice mai importante consecutive culturii fizice sînt :

— reducerea TG-VLDL ;

— ameliorarea lipemiei alimentare ;

— modificările AGL-miei atît cantitativ (scădere urmată de creștere), cît și calitativ (scăderea acidului palmitic și palmotoleic, creșterea acidului linoleic) ;

— creșterea corpilor cetonici ;

— ameliorarea hiperinsulinismului bazal sau reactiv al bolnavilor obezi cu sau fără hiperlipoproteinemie. Acesta este unul din efectele cele mai recent evidențiate și care ar putea explica în viitor multe aspecte legate de cultura fizică ;

— ameliorarea toleranței la glucide.

Antrenamentul, spre deosebire de efortul fizic „acut", produce modificări metabolice asemănătoare, dar diferențiate cantitativ. Cea mai semnificativă diferență este legată de scăderea colesterolului și LDL, fenomen care nu apare după efortul fizic „acut".

X.8.3. INDICAȚII, METODOLOGIE, EFICIENȚA

Cultura fizică este indicată în orice formă de HL—HLP, dar, mai ales acolo unde obezitatea sau supraponderea este prezentă.

În funcție de starea aparatului cardio-vascular sau a altor sisteme organofuncționale se indică :

— cultură fizică medicală ;

— cultură fizică liberă, prescrisă în funcție de posibilitățile de realizare : gimnastică, ciclism, crosuri, înot, mers pe jos, patinaj. Opiniem pentru mersul pe jos, zilnic cîte 60—90 de minute sau chiar mai mult, la care se pot adăuga celelalte sporturi, practicate însă cu moderație. În caz contrar, *stress*-ul consecutiv exercițiului fizic de mare intensitate este mai degrabă dăunător, cu atît mai mult, cu cît ingestia alimentară și probabil alcoolică care îi urmează anihilează bilanțul caloric negativ realizat. Trebuie combătut entuziasmul caracteristic obezilor hiperlipemici, care la începutul terapiei prin cultură fizică sînt dispuși la astfel de excese, dar, care, din nefericire, sînt însă episodice. Eficiența maximă este realizată prin eforturi *moderate* dar *zilnice*, practicate toată viața.

La noi în țară rezultate favorabile în tratamentul HL-HLP au fost comunicate de Corafu și colab. (118—120). Se pare că HLP tip IV, III și II B răspund cel mai bine în urma practicării culturii fizice.

X.9. TRATAMENTUL CHIRURGICAL

Tratamentul chirurgical al stărilor HL-HLP este achiziția cea mai modernă și de ultimă instanță a terapiei hipolipidemiante. În prezent, dispunem de două metode chirurgicale care vizează întreruperea cercurilor vicioase metabolice din patogeneza HLP :

— *by-pass*-ul ileal (121, 122) este metoda cea mai binecunoscută și cu rezultate destul de încurajatoare ;

— șuntul porto-cav (123) este o metodă foarte recentă (1973) care necesită însă confirmări.

Principiul pe care se bazează *by-pass*-ul ileal este extrem de simplu și logic : ablația suprafeței absorbtive a colesterolului reduce mult secvența „input" din metabolismul său. Deși biosinteza sa hepatică crește de 2—3 ori, secvența „input" va fi deficitară, bilanțul fiind scăderea colesterolului seric și a LDL. TG-VLDL nu sînt afectate (121, 122).

Indicațiile tratamentului chirurgical prin această metodă sînt limitate la obezii cu HLP tip II A, care prezintă următoarele particularități :

— sînt rezistenți la tratamentul dietetic, cultura fizică și tratamentul medicamentos timp îndelungat ;

— se exclude cu certitudine cauza secundară a HLP ;

— nu prezintă fenomene de insuficiență cardiacă.

Eficiența terapiei chirurgicale, apreciată prin nivelul colesterolului, stigmatele tegumentare sau ateroscleroză, este următoarea (121, 122) :

— colesterolemia se reduce cu 40% în primele 3 luni și cu 45% în primii doi ani postoperatori. Concomitent, se remarcă reducerea cu 60% a capacității de absorbție a colesterolului, creșterea excreției steroidice prin fecale și creșterea de 4—5 ori a sintezei hepatice a colesterolului ;

— regresiunea sau dispariția stigmatelor tegumentare ;

— deși la om nu s-a demonstrat, regresiunea sau oprirea aterogenezei în urma *by-pass*-ului ileal, la cîini și iepuri acest fenomen a fost evidențiat.

Efectele secundare ale *by-pass*-ului ileal sînt :

— sindrom diareic, controlabil prin medicații corespunzătoare ;

— scădere ponderală ;

— deficit de vitamina B_{12}, corectabil prin adaosul parenteral ;

— încărcare hepatică cu trigliceride (125).

Probabil că printr-o experiență extensivă în acest domeniu, în viitor se vor oferi argumente mai convingătoare, atît pentru pacienți, cît și pentru medici în favoarea *by-pass*-ului ileal ca metodă terapeutică hipocolesterolemiantă.

Scanned with OKEN Scanner

X.10. SELECTAREA METODOLOGIEI ÎN TERAPIA STĂRILOR HIPELIPIDEMICE-HIPERLIPOPROTEINEMICE

Eficiența tratamentului stărilor HL-HLP depinde de :

a) diagnosticul complet al anomaliei lipido-lipoproteinice ;

b) cooperarea medic-bolnav în sensul stabilirii unor indicații atît *necesare*, din punct de vedere medical, cît și *posibil* de respectat ;

c) control medical periodic.

În cele ce urmează vom reda sintetic (7, 16—18, 126—132) tratamentul diferențiat al formelor de HL-HLP și tratamentul unor forme speciale de HLP.

X.10.1. TRATAMENTUL HIPERLIPOPROTEINEMIEI TIP I

În tratamentul HL familiale tip I, mijloacele terapeutice se restrîng la regimul alimentar restrictiv în lipide saturate. Trigliceridele cu lanț mediu au efect îndoielnic. Cultura fizică se poate prescrie, dar nu se cunosc pînă acum efecte favorabile certe.

Medicamente eficiente în această formă de HLP nu există. Heparina și CPIB nu au dat rezultatele scontate. Utilizarea unor anabolizante este de dată foarte încurajatoare, deocamdată se așteaptă confirmări.

În unele forme secundare, în special de cauză imunologică, este eficient tratamentul cu cortizon, care împiedică formarea anticorpilor antiheparinici, crește activitatea LPL, în felul acesta reducîndu-se chilomicronemia și VLDL.

X.10.2. TRATAMENTUL HIPERLIPOPROTEINEMIEI TIP II A

În tratamentul HLP familială tip II A (homo- sau heterozigoți) deosebim următoarele etape :

a) într-o primă etapă cu o durată de 2—3 luni :

— se instituie regimul alimentar corespunzător, aplicat și suprave-gheat cu strictețe. Hipocalorismul se impune în caz de necesitate, deoarece reducerea ponderală trebuie realizată acolo unde este cazul ;

— cultura fizică se aplică conform principiilor expuse ;

b) ineficiența acestor mijloace terapeutice decide instituirea terapiei medicamentoase ; în ordinea eficienței optăm pentru :

— colestiramină ;

— sitosterol ;

— dextrotiroxină.

Se poate încerca acidul nicotinic și clofibratul. Uneori se asociază colestiramina cu acidul nicotinic.

Scanned with OKEN Scanner

Menționăm că acestea vor fi administrate concomitent cu păstrarea regimului alimentar și a culturii fizice.

Rezistența în fața acestor măsuri, după 3—4 luni de terapie, ne indică etapa tratamentului chirurgical.

În cazul formelor homozigote, atît regimul alimentar, cît și tratamentul medicamentos vor fi mai severe decît în cazul formelor heterozigote.

Recent (192), la bolnavii cu forme homozigote, rezistente la tratamentul dietetic și medicamentos, s-au obținut rezultate foarte bune prin înlocuiri de plasmă efectuate la interval de 3 săptămîni, utilizînd un separator de eritrocite cu curent continuu.

În formele primare, se va căuta eliminarea factorilor etiologici; alcoolul, *stress*-ul, obezitatea, patoalimentația excedentară, sedentarismul. În cazul formelor secundare, pe prim plan stă tratamentul bolii de bază.

X.10.3. TRATAMENTUL HIPERLIPOPROTEINEMIEI TIP II B

Acest tip de HLP ridică probleme terapeutice deosebite.

Într-o primă etapă (3—4 luni) se instituie regimul dietetic adecvat, alături de cultura fizică, reducerea ponderei fiind obligatorie în cazul obezilor.

Ineficiența acestor metode indică începerea tratamentului medicamentos. Se pare că asociația colestiraminei cu clofibratul sau cu acidul nicotinic este de cea mai mare eficiență. Probabil că sistosterolul ar putea înlocui colestiramina în cazul aceloraşi asocieri.

În tratamentul formelor primare este obligatorie înlăturarea cauzelor cunoscute (alcool, *stress*, sedentarism, obezitate, patoalimentație excedentară).

În cazul formelor secundare se tratează boala de bază.

Menționăm că acest tip de HLP răspund greu la tratamentul dietetic și că de multe ori terapia medicamentoasă trebuie administrată timp îndelungat.

X.10.4. TRATAMENTUL HIPERLIPOPROTEINEMIEI TIP III

Prima etapă terapeutică, cu o durată de 3—4 luni, constă din aplicarea regimului dietetic adecvat, cultura fizică, reducerea ponderală în cazul obezilor.

Tratamentul medicamentos se referă la administrarea clofibratului, acesta fiind medicamentul de electie în HLP tip III.

Formele rezistente vor beneficia de asocierea CPIB plus acid nicotinic și, mai rar, de CPIB + dextrotiroxină.

În formele primare sau secundare, îndepărtarea condițiilor etiopatogenetice cunoscute sau tratamentul bolii de bază sînt obligatorii.

Scanned with OKEN Scanner

X.10.5. TRATAMENTUL HIPERLIPOPROTEINEMIEI TIP IV

Regimul dietetic adecvat, cultura fizică şi reducerea ponderală constituie elementele primei etape terapeutice cu o durată de 3—4 luni.

Terapia medicamentoasă va consta din acid nicotinic, clofibrat sau asocierea lor. În formele primare, eliminarea cauzelor etiologice cunoscute este obligatorie. Formele secundare beneficiază în primul rînd de tratamentul bolii de bază.

Menţionăm efectul favorabil al biguanidelor în tratamentul HLP tip IV de intensitate moderată, mai ales dacă se asociază cu scăderea toleranţei la glucide.

X.10.6. TRATAMENTUL HIPERLIPOPROTEINEMIEI TIP V

Terapia acestui tip de HLP comportă probleme deosebite. În mod cert, măsurile dietetice, cultura fizică şi reducerea ponderală sînt de mare importanţă. Ineficienţa lor după 3—4 luni indică introducerea terapiei cu clofibrat, acid nicotinic sau mai bine asocierea lor. Eficienţa nu este aşa de mare ca în celelalte tipuri.

Utilizarea progestativelor sau anabolizantelor, deşi pare eficientă, este de dată recentă pentru a permite concluzii certe.

În privinţa formelor primare şi secundare sînt valabile principiile expuse în cazul HLP tip IV.

X.10.7. TRATAMENTUL STĂRILOR HIPERLIPIDEMIANTE — HIPERLIPOPROTEINEMIANTE ÎN CIRCUMSTANŢE DEOSEBITE

A. DIABETUL ZAHARAT

În hiperlipoproteinemia din diabetul zaharat trebuie să respectăm unele reguli, care vor fi adaptate fiecărui bolnav în parte.

Prima etapă a tratamentului HLP constă în echilibrarea diabetului zaharat.

Tratamentul HLP în prezenţa unui diabet zaharat echilibrat este, de fapt, parte integrantă din tratamentul diabetului zaharat însuşi :

— regimul dietetic va fi aplicat conform schemelor-cadru expuse anterior, dar adaptate necesităţilor calorice, carbohidrate şi lipidice concrete. Normoponderea este obligatorie ;

— cultura fizică îşi menţine valabilitatea descrisă anterior ;

— în eventualitatea insulinoterapiei trebuie evitate episoadele de hipo- sau hiperinsulinism iatrogen ;

— în cazul utilizării hipoglicemiantelor orale, preferinţa se îndreaptă întotdeauna spre biguanide, bineînţeles dacă nu sînt contraindicaţii ;

— medicația hipolipemiantă se utilizează conform indicațiilor anterioare. Prudență se va manifesta față de acidul nicotinic și dextrotiroxină. De fapt, unii autori (135) afirmă că în diabetul zaharat dispunem numai de două medicamente hipolipemiante : colestiramina și clofibratul.

Observarea clinico-biologică a diabeticului cu HLP trebuie să fie extrem de atentă, deoarece în cursul tratamentului putem asista la influențe favorabile reciproce : ameliorarea HLP induce ameliorarea diabetului, în timp ce echilibrarea ideală a diabetului zaharat poate normaliza spectrul lipoproteinic plasmatic.

B. PANCREATITELE ȘI DURERILE ABDOMINALE

Deoarece diagnosticul pancreatitei acute în cazul unei HLP majore (hipertrigliceridemie majoră) este greu de stabilit, trebuie să-l acceptăm la orice bolnav cu HLP în prezența durerilor abdominale atipice rezistente la antispasticele obișnuite. În aceste cazuri opiniem pentru :

— suspendarea alimentației orale timp de 24—48 ore, timp în care aportul calorico-nutritiv este asigurat pe cale intravenoasă sau rectală ;

— reintroducerea alimentației orale se face cu prudență în funcție de ameliorarea HLP și a durerilor, oricum excluzînd lipidele în primele zile și administrîndu-le mai degrabă sub forma trigliceridelor cu lanț mediu în continuare.

Rezistența durerilor abdominale la antialgice și antispastice ridică probleme deosebite, atît de diagnostic, cît și de terapie, deoarece răbdarea și rezistența bolnavului este greu pusă la încercare.

C. HIPERLIPOPROTEINEMIILE AUTOIMUNE

În aceste cazuri, tratamentul bolii de bază va constitui esența terapeutică. Totuși, Beaumont (133) comunică rezultate favorabile în urma utilizării penicilaminei. Stern și colab. (134) constată ameliorarea HLP tip III, produsă de anticorpi antiheparinici, prin utilizarea preparatelor cortizonice.

D. HIPERLIPOPROTEINEMIA DIN SARCINĂ

În aceste cazuri, între obstetrician, nutriționist și gravidă trebuie să existe o colaborare strînsă. Opiniem pentru următoarea conduită :

— o sarcină impune întreruperea medicației hipolipidemiante. Deși nu se comunică efecte teratogene în aceste cazuri, prudența este, credem, cea mai logică opțiune.

— regimul dietetic trebuie adaptat în funcție de necesitățile nutritive calitative și cantitative ale gravidei ; oricum, schemele-cadru prezentate anterior sînt puncte de referință ;

— hipertrigliceridemia apărută în cursul sarcinei nu este un motiv de tratament medicamentos, ci doar de restricție lipidică alimentară. După naștere, se vor recontrola parametrii lipidici pentru a depista un eventual focar HLP.

Scanned with OKEN Scanner

X.11. CONCLUZII

Datorită filiației HLP cu ateroscleroza, tratamentul hipolipidemiant este într-o permanentă și stringentă actualitate. Pentru realizarea lui în bune condiții, se impun unele *măsuri preliminare :*

— diagnosticul tipului de HLP ;

— depistarea unor eventuale condiții etiopatogenetice hiperlipoproteinemiante : familiale, obezitatea, patoalimentația excedentară, diabetul zaharat, alcoolismul, *stress*-ul psihic, sedentarismul etc. ;

— asigurarea condițiilor organizatorice pentru cooperarea medic-bolnav, în cadrul unei dispensarizări de lungă durată.

Strategia hipolipidemiantă se bazează pe : regimul alimentar, cultură fizică, medicație și *by-pass*-ul ileal, eșalonate după cum urmează :

În orice formă de HLP tratamentul se începe prin dietă (diferențiată conform schemelor-cadru) și cultură fizică. Acestea se vor păstra chiar și în eventualitatea insuccesului, apreciat după 3—4 luni. În acest moment, alături de dietă și cultura fizică introducem medicația hipolipidemiantă ; diferențierea ei în funcție de tipul HLP este obligatorie. Repetăm că nu există un medicament cu calități de panaceu în toate formele de HLP.

Terapia cu medicamente hipolipidemiante trebuie executată precis, atît din punct de vedere cronologic (momentul opțiunii pentru medicamente), cît și din punct de vedere posologic (doze eficiente pe o durată suficientă). Cu alte cuvinte : „să nu tratăm de frică, dar să nu ne fie frică să tratăm".

Rareori se ajunge la *by-pass*-ul ileal.

Excluderea condițiilor etiopatogenetice este obligatorie în HLP primare, tot așa cum tratamentul bolii de bază se impune în majoritatea HLP secundare.

Controlul bolnavului hiperlipoproteinemic se va face, la început, la un interval de 3 săptămîni, ajungîndu-se la 3 luni, în funcție de rezultatele terapeutice și de conștiinciozitatea bolnavului. Acestea sînt necesare pentru modificarea atitudinii terapeutice și depistarea unei eventuale recăderi.

Tratamentul stărilor HL—HLP necesită din partea medicului mult tact și capacitate de convingere, iar din partea bolnavului, conștiinciozitate, răbdare și, mai ales, încredere în reușita efortului său, care de multe ori înseamnă multă renunțare.

Scanned with OKEN Scanner

XI. STĂRILE HIPOLIPIDEMICE-HIPOLIPOPROTEINEMICE

Stările hipolipidemice-hipoproteinemice au o frecvență mult mai redusă decît stările hiperlipidemiante-hiperlipoproteinemiante (1). Importanța lor este, de asemenea, redusă atît din punct de vedere clinicoepidemiologic, cît și profilacticoterapeutic. Totuși, anomaliile familiale ale LDL și HDL, deși extrem de rare, oferă un model fiziopatologic și patobiochimic *in vivo* extrem de util pentru descifrarea biochimiei lipoproteinelor.

Stările hipolipidemiante se referă la hipocolesterolemii și hipotrigliceridemii în relație directă cu stările hipolipoproteinemiante (2—4).

Hipocolesterolemiile se clasifică în primare și secundare. Hipocolesterolemiile primare apar în cadrul anomaliilor congenitale ale LDL și HDL, iar cele secundare se întîlnesc în stări de denutriție, hipertiroidism, boli consumptive, infecții bacteriene (pneumonie, tbc, difterie), hepatite virale grave, ciroze hepatice portale sau postnecrotice, anemia Biermer, leucoze, limfogranulomatoza malignă, limfosarcomatoza, anemia hemolitică congenitală microsferocitară, plasmocitomul, boala Waldenström.

Mecanismul și semnificația patogenetică a acestor modificări nu sînt întotdeauna cunoscute.

Hipotrigliceridemiile se clasifică în primare (legate de anomaliile congenitale ale lipoproteinelor) și secundare. Acestea se întîlnesc în unele infecții, boli consumptive, unele hemopatii maligne, ciroze hepatice portale sau postnecrotice.

Hipolipoproteinemiile sînt clasificate în primare și secundare. Cele secundare apar în circumstanțele enumerate în cazul hipolipidemiilor.

Hipolipoproteinele primare se referă la analfalipoproteinemia (boala Tangier) și abeta-lipoproteinemiile familiale. Rareori se descriu cazuri de hipobeta-lipoproteinemii familiale.

Deoarece tabloul clinic al acestor boli este datorat în cea mai mare parte patologiei lipidice tisulare (5—8), vor fi detaliate în vol. II, împreună cu deficitul congenital de LCAT.

Scanned with OKEN Scanner

ANEXE

ANEXA Nr. 1

Tabelul V. 9

Valorile normale ale Tg. col şi LP serice (în R. S. România)

Vîrsta ani	Colesterolemie mg %	Trigliceridemie mg %	VLDL col. VLDL mg %	LDL col. LDL mg %	HDL col. HDL mg %
La naştere	70—90	55—70	11—13	55—65	20—25
0—19	135—170	50—60	9—11	80—100	40—50
20—29	145—180	60—75	13—16	90—110	40—50
30—39	150—190	70—85	13—16	95—115	40—50
40—49	175—220	95—115	16—20	110—135	45—55
50—59	190—235	100—125	20—24	120—150	35—45
> 60	200—250	110—135	24—27	135—170	30—40

Scanned with OKEN Scanner

Tabel cu compoziţia alimentelor

ANEXA 2

Nr. crt.	Denumirea alimentului	Necesarul pt. 100 g produs comestibil	Apă (%)	Protide (%)	Lipide (%)		Glucide (%)		Calorii	Acid uric mg%	Baze purinice mg
					Total	Colesterol	Total	Celuloză			
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
	Lapte şi derivate										
1	Lapte de vacă	100	87	3,5	3,6	0,11	4,8	0	67	0	0*
2	Lapte de vacă	100	88	3,5	3	0,1	4,9	0	65	0	0
3	Lapte smîntînit	100	88	3,5	2,5	—	4,9	0	58	0	0
4	Lapte de bivoliţă	100	90	3,5	0,1	—	5	0	38	0	0
5	Lapte de vacă bătut integral	100	82	5,6	6,5	—	4,9	0	104	0	0
6	Lapte de vacă bătut smîntînit	100	88	3,5	3,6	0,11	3,9	0	64	0	0
7	Iaurt extra	100	91	3,4	—	—	4	0	31	0	0
8	Iaurt gras	100	88	4	4	0,1	3	0	67	0	0
9	Iaurt slab	100	90	3,2	3,2	0,1	3	0	55	0	0
10	Lapte praf din lapte normalizat	100	92	3,3	0,1	—	3,9	0	30	0	0
11	Lapte praf din lapte parţial smîntînit	100	4	27	24	01	40	0	498	0	0
12	Brînză foarte grasă de vacă	100	4	30	16	—	45	0	456	0	0
13	Brînză grasă de vacă	100	62	12,5	17,5	—	5	0	234	0	0
14	Brînză slabă de vacă	100	70	13	9	0,3	4,5	0	156	0	0
15	Urdă	100	75	17	1,2	—	4	0	97	0	0
16	Brînză de burduf	100	69	18	4	—	6	0	136	0	0
17	Brînză telemea de oaie	100	39	28	28	—	0,5	0	377	0	0
18	Brînză telemea de vacă	100	55	17	20	—	1	0	270	0	0
19	Caşcaval „Dobrogea”	100	57	17	17,2	—	1	0	243	0	0
20	Caşcaval „Penteleu”	100	44	24	25	0,19	1	0	334	0	0
21	Brînză „Schweitzer”	100	50	25	19	0,19	1	0	283	0	0
22	Brînză „Olanda”	100	42	26	26	0,19	0,5	0	350	0	0
23	Brînză topită cremă „Bucegi”	100	44	30	20,8	0,14	0,2	0	317	0	0
24	Brînză topită specială pentru copii	100	52	7	36	0,14	0,9	0	368	0	0
25	Brînză topită grasă	100	52	14	28,8	0,14	1	0	330	0	0
26	Brînză topită 3/4 grasă	100	55	20	20,3	0,14	1	0	271	0	0
27	Brînză topită 1/2 grasă	100	55	27	13,5	0,1	1	0	241	0	0
28		100	55	31	9	0,1	1	0	215	0	0

Legendă : * 0 = absent
— = nu se cunoaşte
+ = prezent dar necalculat

Scanned with OKEN Scanner

	Carne şi derivate											
29	Carne de vacă slabă	143	74	21	3,5	—	—	0	118	111	37	
30	Carne de vacă semigrasă	143	71	20	8	0,125	—	0	156	111	37	
31	Carne de vacă grasă	143	64,3	18,3	16,3	0,125	—	0	226	111	37	
32	Carne de viţel slabă	154	74	22	3	0,06	—	0	118	114	38	
33	Carne de viţel semigrasă	154	71,2	20,5	6,8	0,10	—	0	149	114	38	
34	Carne de porc slabă	125	72	20,4	6,3	0,09	—	0	143	123	41	
35	Carne de porc semigrasă	125	60,9	16,5	21,5	0,09	—	0	268	123	41	
36	Carne de porc grasă	125	49	15	35	0,105	—	0	388	++	++	
37	Carne de oaie slabă	133	72	20	6,5	0,07	—	0	144	++	++	
38	Carne de oaie semigrasă	133	54	17	28	0,07	—	0	331	++	++	
39	Carne de miel	143	62	18	20	0,07	—	0	260	—	—	
40	Carne de găină slabă	118	73	20	5	—	—	0	128	174	58	
41	Carne de găină grasă	118	70	19	9,5	—	—	0	167	174	58	
42	Carne de curcă slabă	114	65,8	24,5	8,5	—	—	0	179	++	++	
43	Carne de curcă grasă	114	63,1	20,6	15,3	—	—	0	227	++	++	
44	Carne de gîscă semigrasă	116	60,8	18,4	20	—	—	0	260	99	33	
45	Carne de gîscă grasă	116	46	16	35	—	—	0	392	99	33	
46	Carne de raţă	116	75	19,6	6	0,07	—	0	136	81	20	
47	Carne de cal	143	75,6	21	2,5	—	0,9	0	113	—	—	
48	Carne de căprioară	133	76	20	1,9	—	—	0	100	117	39	
49	Carne de iepure	118	75	22	1	0,05	—	0	98	++	38	
50	Carne de mistreţ	125	74	22	2,4	—	—	0	114	—	—	
51	Creier de bovine	100	79	10	9	2,36	—	0	125	84	28	
52	Ficat de bovine	100	72	20	5	0,32	4	0	146	279	93	
53	Ficat de porc	100	72	19	6	0,42	3	0	146	+++	+++	
54	Limbă de bovine	100	68,4	16	15	—	0,4	0	207	++	++	
55	Rinichi de bovine, de porc	100	76	18	5	0,41	—	0	122	240	80	
56	Inimă de bovine	100	81,2	15	3	0,15	0,8	0	93	++	++	
57	Salam de iarnă tip „Sibiu”	100	24,1	26,5	43,4	—	—	0	510	—	—	
58	Salam „Rusesc” şi „Poiana”	100	45	17	36	—	—	0	402	—	—	
59	Salam „Italian”, „Bucureşti”, „Cracauer”, „Vînătoresc”	100	54	17,4	26,3	—	—	0	316	++	23	
60	Salam de vacă „Muntenia”, „Bicaz”	100	61	20	16,4	—	—	0	234	—	—	
61	Debreţin	100	60	22	13	—	1,4	0	149	—	—	
62	Şuncă presată	100	52	18,4	26,7	0,105	—	0	324	—	—	
63	Lebervurşt	100	56	17,5	24,2	—	0,7	0	302	114	38	
64	Parizer, crenvurşt, polonez slabe	100	61	10,1	26,6	—	—	0	289	—	—	
65	Tobă de porc cal. I	100	55	23	22	—	—	0	299	—	—	
66	Tobă de porc cal. a II-a „Muscel”	100	68	21,6	8,4	—	—	0	167	—	—	
67	Conserve de carne de porc în suc propriu	100	54	13,5	29,3	—	—	0	327	—	—	
68	Conserve de carne de vită în suc propriu	100	69	20	8	—	—	0	156	—	—	

Scanned with OKEN Scanner

Continuare anexa 2

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
69	Haşe din carne de vită	100	76,1	8,7	12	—	3,2	0	160	—	—
70	Pate de ficat	100	59	15	25	—	0,95	—	295	—	—
71	Carne de porc cu fasole boabe	100	69	6	6	—	19	0	158	—	—
72	Carne de porc cu mazăre	100	72,2	7,8	10	—	10	0	166	—	—
73	Carne de vită cu fasole	100	74,6	10	6	—	9,4	0	135	—	—
	Peşte şi preparate										
74	Babuşcă	222	77,2	17,3	4,5	—	—	0	113	—	—
75	Calcan	250	80	17	2	0,06	—	0	88	++	++
76	Crap	222	77	18,9	2,8	—	—	0	104	++	++
77	Heringi de primăvară (slabi)	182	73	19,1	6,5	—	—	0	139	—	—
78	Heringi de vară, toamnă, iarnă graşi	182	62,7	17,7	18,5	—	—	0	245	—	—
79	Morun	114	76,2	17,5	4,7	—	—	0	115	—	—
80	Nisetru	114	67,7	18,5	17,3	—	—	0	238	—	—
81	Plătică	222	78,4	16,9	3	—	—	0	78	—	—
82	Şalău	167	78,4	19,4	0,4	—	—	0	83	—	—
83	Scrumbii de Dunăre	182	57,6	14,2	25,9	0,08	—	0	299	—	—
84	Somn „pană”	114	63,5	16,8	18,8	0,06	—	0	244	—	—
85	Ştiucă	182	79,4	19,1	0,4	—	—	0	82	135	45
86	Cap sărat	232	53,2	24,4	4,4	—	—	—	141	—	—
87	Heringi slabi sărați	194	59,5	19	6,2	—	—	—	135	—	—
88	Heringi graşi sărați	194	48	18,9	19	—	—	—	254	—	—
89	Scrumbii de Dunăre sărate	194	54,8	19,9	20,7	0,08	—	—	274	—	—
90	Ştiucă sărată	194	59,3	22,8	0,5	—	—	—	98	—	—
91	Conserve de stavrizi în ulei (numai peştele)	100	58,6	22,5	12,3	—	—	—	207	—	—
92	Conserve de crap în sos tomat	100	71,1	12,4	8,7	—	2,8	—	162	—	—
93	Conserve de ştiucă în sos tomat	100	75,1	14,2	4	—	2,8	—	123	—	—
94	Icre de crap	100	69	25	3	—	—	—	130	—	—
95	Icre de ştiucă	100	69	27	1,5	—	—	—	125	—	—
96	Icre negre (caviar)	100	58,9	26	15	—	—	—	246	—	—
97	Icre de Manciuria	100	51	35	12	—	—	—	255	—	—
98	Ou de găină integral	100	72	14	12	0,46	0,6	—	171	0	0
99	Gălbenuş (ou de găină)	100	52	16	32	2	0,3	—	364	0	0
100	Albuş (ou de găină)	100	86	13	0,2	0	0,5	—	57	0	0
101	Praf de ou integral	100	10	45	40	—	1,8	—	564	0	0
102	Ou de găină circa 50 g	—	36	7	6	0,4	0,3	—	85	—	—
103	Un ou de rață circa 60 g	—	42	7	8	—	0,2	—	102	—	—

Scanned with OKEN Scanner

	Legume proaspete											
104	Andive	150	93	1,9	0,1	—	3,2	0,6	22	+	+	
105	Anghinare	270	84	1,7	0,1	—	7,5	2,3	38	+	—	
106	Ardei gras verde	137	92,7	1,1	0,2	—	4,6	1,1	25	—	—	
107	Ardei gras roşu	137	90,2	1,3	0,4	—	7,3	1,3	39	—	—	
108	Cartofi noi	100	82,5	1,7	0,2	0,003	17,4	0,8	80	—	—	
109	Cartofi maturi	117	79,6	2,1	0,2	0,003	19,1	0,7	89	6	1	
110	Castraveţi	139	94,3	1,3	0,2	—	2,9	0,5	19	8	0	
111	Ceapă verde	100	95,3	1	0,2	—	3,5	0,7	20	0	0	
112	Ceapă uscată	106	87,6	1,5	0,2	—	10,5	0,6	51	0	0	
113	Ciuperci	185	88,4	5	0,5	0	2,5	0,8	35	15	—	
114	Conopidă	162	91,6	2,8	0,3	0,02	3,9	1	30	24	8	
115	Dovlecei	100	93,7	0,9	0,1	—	3,2	0,4	18	—	—	
116	Fasole verde	110	89,4	2	0,2	—	5,7	1,3	33	6	2	
117	Gulii	175	91,7	1,8	0,1	—	6	0,8	33	+	+	
118	Hrean	162	75	2,2	0,2	—	17,2	2,3	81	—	—	
119	Lobodă	100	92,4	2,9	0,2	—	1,4	0,6	19	—	—	
120	Mazăre verde boabe	212	71	8,4	0,5	—	14	2,7	96	54	18	
121	Mărar (frunze)	100	62	1,8	—	—	5,6	2,7	30	—	—	
122	Morcov	109	87,2	1,5	0,3	0,001	8,8	1,4	45	0	2	
123	Napi	100	92	1,1	0,2	—	6,3	1,2	32	—	—	
124	Păstîrnac	125	80	1,4	0,5	—	15	2,5	72	—	—	
125	Pătrunjel (frunze)	105	87	3,6	0,7	—	6,6	1,3	48	—	—	
126	Pătrunjel (rădăcini)	100	78	1,1	0,8	—	10	1,3	53	+	+	
127	Pătlăgele roşii	103	93,9	1,1	0,3	—	4,3	0,6	25	—	—	
128	Pătlăgele vinete	131	91,6	1,3	0,2	—	4,8	1,5	27	—	—	
129	Praz	120	88	2,3	0,4	—	9,9	1,2	54	—	—	
130	Ridichi de lună	167	94,8	0,6	0,1	—	3,8	0,8	19	15	5	
131	Ridichi de iarnă	139	94	1,3	0,1	—	4,9	1,3	26	—	—	
132	Salată verde	164	94,2	1,9	0,3	—	2,9	0,9	22	9	3	
133	Sfeclă roşie	126	87	1,3	0,1	—	9	0,8	43	—	—	
134	Spanac	126	90,1	3,5	0,3	0,006	2	0,9	25	72	24	
135	Sparanghel	149	92	2	0,2	0,016	2,6	0,9	21	24	8	
136	Ştevie	100	88,6	4,6	—	—	—	1,2	—	—	—	
137	Ţelină (rădăcină)	164	87	1,4	0,3	—	5,9	—	33	+	+	
138	Urzici	100	80	7,9	0,7	—	7,1	1,9	68	—	—	
139	Usturoi	100	61,9	7,2	0,2	—	26	1,6	137	—	—	
140	Varză albă	137	91,7	1,8	0,2	—	5,8	1,1	33	6	2	
141	Varză Bruxelles	131	84	4	0,5	—	7	1,3	50	0	0	
142	Varză chinezească	126	93	1,3	0,2	—	2,9	—	19	—	—	
143	Varză roşie	126	90,5	1,9	0,2	—	5,6	1,1	33	—	—	

Scanned with OKEN Scanner

Continuare anexa 2

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
	Legume conservate										
144	Conopidă în apă (sterilizată)	100	95	0,9	—	—	1,5	0,5	10	—	—
145	Dovlecei în apă (sterilizată)	100	94	1,8	0,5	—	2,5	0,4	21	—	—
146	Fasole verde în apă (sterilizată)	100	94,4	1,5	0,4	—	2,4	1	20	—	—
147	Mazăre în apă (sterilizată)	100	86,5	2,4	0,5	—	8,1	1	48	—	—
148	Sparanghel în apă (sterilizat)	100	96	0,8	0,1	—	2,7	0,7	15	—	—
149	Bame în bulion (sterilizate)	100	90	1,5	0,6	—	6	0,7	36	—	—
150	Ghiveci în bulion (sterilizat)	100	93,5	1,2	0,5	—	3,8	0,85	25	—	—
151	Roşii în bulion (sterilizate)	100	92,3	1,7	0,4	—	4,7	0,7	30	—	—
152	Vinete în bulion (sterilizate)	100	93,5	1,1	0,5	—	2,5	0,8	19	—	—
153	Ghiveci în ulei	100	81	2,5	8	—	3,4	1	98	—	—
154	Tocană de legume (sterilizată)	100	83,5	1,4	6	—	5,5	1,2	94	—	—
155	Tomate umplute cu orez (sterilizate)	100	80,5	2,1	8	—	8,4	0,8	117	—	—
156	Ardei umpluţi cu orez (sterilizaţi)	100	83	1,4	8	—	8,2	0,6	114	—	—
157	Vinete împănate (sterilizate)	100	81	1,5	8	—	2,4	1,2	90	—	—
158	Bane în ulei (sterilizate)	100	84,2	1,9	6	—	6,2	1,8	19	—	—
159	Suc de tomate	100	93	1,1	—	—	4,6	0,5	25	—	—
160	Bulion de tomate	100	80	3,6	—	—	11,56	0,8	60	—	—
161	Pastă de tomate	100	68	4,7	—	—	17,6	2,3	92	—	—
162	Ciuperci deshidratate	100	11,7	41,7	1,7	—	30,8	—	313	—	—
163	Cartofi deshidrataţi	100	10,2	7,4	0,4	—	77,0	—	350	—	—
164	Morcovi deshidrataţi	100	14,6	9,3	1,5	—	61,4	—	304	—	—
165	Castraveţi muraţi în oţet	100	95	—	—	—	3,6	0,9	15	—	—
166	Varză acră	100	90	1,2	—	—	3,3	1	25	—	—
	Fructe proaspete										
167	Afine	103	84	0,7	0,6	—	13,9	1,2	66	0	0
168	Agrişe	105	85	1,3	0,4	—	9,5	3,2	48	0	0
169	Ananas	154	85	0,4	0,2	—	11,9	0,4	52	—	—
170	Banane	147	75	1,3	0,6	0,008	13,4	0,8	66	0	0
171	Caise (soiuri)	107	85	1,1	0,1	0,003	12,9	0,6	58	0	0
172	Caise (zarzăre)	109	84	0,9	0,2	0,003	11,5	0,7	54	—	—
173	Căpşuni	104	90	0,8	0,6	0,009	8,2	2,6	43	0	0
174	Cantalupi	208	91	0,8	0,1	—	6,9	0,7	30	—	—
175	Cireşe amare	114	76	1	0,4	—	17,8	0,5	80	0	0
176	Cireşe (soiuri)	111	75	1,1	0,3	—	18,3	0,4	82	—	—
177	Coacăze roşii	104	92	1,5	0,6	—	10,2	2,4	54	0	0
178	Coacăze negre	104	79	1	0,7	—	13,7	2,3	65	—	—

Scanned with OKEN Scanner

179	Coarne	147	79	0,7	0,4	—	16,9	0,7	76	—	—
180	Corcoduşe	117	82	0,6	0,1	—	10,2	0,6	45	—	—
181	Dude	103	83	1,3	0,6	—	14,5	2	81	—	—
182	Fragi de pădure	105	87	1,3	1	—	9,8	3,4	57	—	—
183	Grapefruit	143	89	0,5	0,2	—	6,5	0,3	38	—	—
184	Gutui	119	82	0,5	0,5	—	14,2	1,8	66	—	—
185	Lămîi	154	89	0,9	0,7	—	6,2	1,9	30	0	0
186	Mandarine	161	88	0,8	0,1	—	8,7	1,4	40	—	—
187	Măceşe	114	71	4,1	1,2	—	21,8	6,8	127	—	—
188	Mere	109	82	0,3	0,4	0,007	16,9	1	74	0	0
189	Merişoare (coacăze de munţi)	105	84	0,7	0,7	—	11,6	0,7	67	—	—
190	Mure	104	81	1,5	1,4	—	14,1	3,5	77	0	0
191	Nectariene (prune „peche")	117	86	0,6	0,1	—	13,8	0,5	56	—	—
192	Pepeni galbeni	200	94	0,5	0,1	—	5	0,4	23	0	0
193	Pepeni verzi	205	91	0,5	0,1	0,017	5,4	0,3	29	0	0
194	Pere	116	82	0,6	0,5	0,014	16	2,4	73	0	0
195	Piersici	114	83	0,9	0,1	0,006	12,4	0,5	56	0	0
196	Portocale	143	87	0,8	0,2	0,014	10,1	0,5	47	0	0
197	Prune	117	78	0,6	0,1	—	17,2	0,6	74	0	0
198	Zmeură	102	83	1,4	0,6	—	13,6	1,4	67	0	0
199	Scoruşe (sorb)	147	82	1,6	0,2	—	15,4	3,3	72	0	0
200	Struguri	107	81	2,1	1,7	0,006	18,5	0,6	100	0	0
201	Vişine	112	85	1,2	0,5	—	13,6	0,4	65	—	—
	Fructe uscate										
202	Caise (fără simburi)	100	20	5,2	0,4	—	68	3,4	304	—	—
203	Curmale (cu simburi)	200	19	1,9	0,6	—	74	3,8	326	—	—
204	Măceşe cu seminţe	167	13	2,2	0,7	—	62,2	11,6	270	—	—
205	Mere	100	23	1,4	1	—	72	3,5	310	—	—
206	Mere	103	3	1,8	2,4	—	9,1	4,9	402	—	—
207	Pere	100	24	2,4	0,4	—	70	8	300	—	—
208	Piersici (fără simburi)	100	24	3	0,6	—	69,4	3,5	304	—	—
209	Prune cu simburi	120	20	2,5	0,5	—	71	2	306	—	—
210	Smochine	100	26	4,3	1,3	—	58	7	267	0	0
211	Stafide	100	17	2,5	0,5	—	71,2	2,4	307	0	0
	Sucuri de fructe										
212	Afine	100	84,7	0,08	—	—	15	—	62	—	—
213	Gutui	100	85,4	0,09	—	—	14,2	—	58	—	—
214	Mere	100	22,2	0,09	—	—	17,4	—	72	—	—
215	Mere	100	91,1	—	—	—	8,7	—	36	—	—

Scanned with OKEN Scanner

Continuare anexa 2

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
216	Pere	100	85,6	0,02	—	—	14,1	—	57	—	—
217	Zmeură	100	87,2	0,16	—	—	12,3	—	51	—	—
218	Prune	100	85,9	0,09	—	—	13,7	—	56	—	—
219	Struguri	100	79,5	0,13	—	—	20	—	83	—	—
220	Nectar de caise	100	80,9	0,81	—	—	17	—	73	—	—
221	Nectar de gutui	100	87,4	0,18	—	—	10,6	—	44	—	—
222	Nectar de piersici	100	80,4	0,71	—	—	17,4	—	74	—	—
223	Nectar de vişine	100	80,7	0,81	—	—	14,7	—	63	—	—
	Compoturi										
224	Afine	100	70	—	—	—	28	1,9	115	—	—
225	Caise	100	74,5	0,5	—	—	23,7	0,65	99	—	—
226	Cireşe	100	71	0,2	—	—	26,5	0,40	109	—	—
227	Gutui	100	73	—	—	—	25	1,8	102	—	—
228	Mere	100	75	—	—	—	24	0,6	98	—	—
229	Pere	100	76,5	0,24	—	—	21,5	0,8	89	—	—
230	Piersici	100	73	0,25	—	—	25,8	0,6	107	—	—
231	Prune	100	67	0,25	—	—	29,5	0,4	122	—	—
232	Zmeură	100	75,1	0,1	—	—	23,5	1	97	—	—
233	Vişine	100	74	0,2	—	—	24,7	0,35	102	—	—
	Leguminoase uscate										
234	Fasole boabe	100	13	23	1,7	—	47	4,4	303	—	—
235	Linte boabe	100	12	25	1,9	—	52	—	337	—	—
236	Mazăre boabe	100	13	21,5	1,9	—	53	4,4	323	—	—
	Produse derivate din cereale										
237	Pîine de grîu albă	100	32,1	10,3	2	—	54	0,1	282	0	0
238	Pîine de grîu intermediară	100	37,2	8,3	0,8	—	52,2	0,2	255	—	—
239	Pîine de grîu neagră	100	33,5	8,4	1,2	—	48,5	0,7	245	0	0
240	Pîine de secară	100	40,2	7,8	1,3	—	47,5	1	239	0	0
241	Pîine graham	100	—	9,1	1	—	51	—	256	0	0
242	Cornuri, chifle	100	33,5	10,5	0,6	—	53,5	0,1	269	—	—
243	Făină de grîu (extracţie 0—30%)	100	14	10,8	0,9	—	73,6	0,6	354	—	—
244	Făină de grîu (extracţie 75%)	100	14	11	1,1	—	72,9	0,3	254	—	—
245	Făină de grîu (extracţie 85%)	100	14	11,5	1,4	—	71,3	0,8	352	—	—
246	Făină de secară	100	14	8,9	1,2	—	74,6	0,6	353	—	—
247	Făină de porumb	100	14	9,6	1,7	—	72,1	—	351	—	—
248	Arpacaş din orez	100	14	9,5	1,5	—	72	1,8	348	0	0

Scanned with OKEN Scanner

249	Orez decorticat	100	14	7,6	1	—	75,8	0,4	351	0	0	
250	Griș	100	14	11,2	0,8	—	73,3	0,2	354	0	0	
251	Fulgi de ovăz	100	12	13,6	6,3	—	65,3	0,8	382	0	0	
252	Paste făinoase obișnuite	100	12,5	5,6	1	—	75,9	0,3	360	—	—	
253	Paste făinoase cu ouă	100	11,8	10,2	2,2	—	79,1	0,3	366	—	—	
254	Biscuiți	100	6	8,2	9,5	—	74	—	337	—	—	
	Fructe și semințe oleaginoase											
255	Alune în coajă	200	4	8,7	33,8	—	11,7	3,2	408	—	—	
256	Arahide	238	8	25,8	44,5	—	15,7	2,4	584	—	—	
257	Castane	117	8	10,7	7	0,02	69,5	1,6	400	—	—	
258	Fisticuri	—	4	22,3	54	—	13,8	2,8	650	—	—	
259	Măsline grecești	117	52	2	35	—	7,2	3,4	372	—	—	
260	Măsline verzi	117	41	24	10	—	8,1	4,8	136	—	—	
261	Migdale dulci	167	6	24	55	0,05	13,2	4,8	664	—	—	
262	Nuci	222	5	19,8	60	—	3,7	2,2	654	—	—	
263	Nuci de cocos	—	8	8,4	48,8	—	26,9	5,8	598	—	—	
264	Dovleac (semințe)	114	7	28	47,4	—	5,1	1,2	572	—	—	
265	Floarea soarelui (semințe)	125	8	14,7	32,3	—	14,5	28,1	420	—	—	
266	Mac (semințe)	100	8	19,5	40,8	—	18,7	7,2	536	—	—	
	Produse zaharoase											
267	Zahăr	100	0,1	—	—	—	99,9	—	410	0	0	
268	Glucoză	100	22	—	—	—	77,7	—	319	0	0	
269	Lactoză	100	—	0,2	—	—	99	—	407	0	0	
270	Miere de albine	100	18	0,4	—	—	81,3	—	335	—	—	
271	Amidon	100	—	—	—	—	83	—	340	—	—	
272	Caramele cu lapte	100	3	—	—	—	96	—	398	—	—	
273	Caramele cu fructe	100	6,8	—	—	—	92,2	—	381	—	—	
274	Dropsuri	100	1,2	—	—	—	98,8	—	405	—	—	
275	Drajeuri	100	1,2	—	—	—	98,8	—	405	—	—	
276	Bomboane fondante	100	8,4	3,1	9,1	—	78,7	—	420	—	—	
277	Bomboane cu ciocolată	100	0,9	7	33,8	—	56,3	—	574	—	—	
278	Praline	100	8	3	15	—	73	—	450	—	—	
279	Sirop de fructe (vișine, zmeură)	100	28	0,09	—	—	70	—	288	—	—	
280	Gem de caise	100	25	0,65	—	—	73	0,85	302	—	—	
281	Gem de piersici	100	21	0,64	—	—	74,5	0,75	308	—	—	
282	Gem de prune	100	25	0,62	—	—	72,5	0,60	300	—	—	
283	Gem de zmeură	100	20	—	—	—	74,3	1,1	304	—	—	
284	Gem de vișine	100	24,1	0,88	—	—	69,5	0,6	299	—	—	
285	Gem de căpșuni	100	23	0,34	—	—	74	0,8	304	—	—	

Scanned with OKEN Scanner

Continuare anexa 2

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
286	Gem de gutui	100	22	0,35	—	—	75	0,8	308	—	—
287	Dulceaţă de nuci verzi	100	22,3	—	—	—	76,1	0,4	312	—	—
288	Dulceaţă de trandafiri	100	18,8	—	—	—	80,3	0,8	328	—	—
289	Jeleu de afine	100	—	0,6	—	—	76	—	314	—	—
290	Jeleu de mure	100	—	0,5	—	—	65	—	269	—	—
291	Marmeladă amestec	100	23,3	0,46	—	—	72,5	1,4	269	—	—
292	Marmeladă extra	100	26,5	0,42	—	—	71	1,1	292	—	—
293	Magiun de prune	100	—	1,5	—	—	55	—	245	—	—
294	Fructe candicate	100	—	0,3	—	—	75	—	309	—	—
295	Cacao praf	100	5,2	23,4	20,2	—	40,2	—	449	—	—
296	Ciocolată „menaj”	100	1	6,5	27,5	—	61,6	—	536	—	—
297	Ciocolată cu lapte	100	1,2	6,9	29,9	—	49,8	—	603	—	—
298	Ciocolată cu vanilie	100	1	5,1	33,1	—	58,9	—	570	—	—
299	Marţipan	100	13,8	9,3	28,5	—	46,7	—	495	—	—
300	Nuga	100	1	9	35	—	53	—	575	—	—
301	Halva floarea soarelui	100	3,7	18,8	31,5	—	43	—	546	—	—
302	Halva din susan	100	3,3	13,9	32,9	—	47,4	—	554	—	—
	Grăsimi										
303	Smîntînă 20%	100	71,4	3,5	20	0,10	31	—	213	—	—
304	Smîntînă 30%	100	63,2	2,5	30	0,10	2,3	—	299	—	—
305	Unt	100	9,5	8	80	0,28	2,5	—	806	0	0
306	Untură de porc	100	0,2	0,2	99,6	—	—	—	928	0	0
307	Untură de gîscă	100	0,3	0,5	99	—	—	—	923	—	—
308	Seu de bovine şi ovine	100	0,3	0,3	99,4	—	—	—	927	—	—
309	Untdelemn de floarea soarelui	100	0,1	—	99,9	—	—	—	929	—	—
310	Ulei de soia	100	0,2	—	29,8	—	—	—	928	—	—
311	Margarină	100	15,7	0,5	82	—	—	—	766	—	—
	Băuturi alcoolice										
312	Bere	100	90	0,6	4,4	—	4	0	50	0	0
313	Ţuică	100	—	—	40	—	—	0	250	0	0
314	Rom	100	56	0	43,9	—	0	0	312	0	0
315	Vin (medie)	100	—	—	7,5	—	0,1	0	53	0	0
316	Whisky	100	—	0	42,2	—	0	0	301	0	0
	Diverse										
317	Gelatină uscată	100	13	85,6	0,1	—	0	0	343	—	—
318	Drojdie de bere	100	7	46,1	1,6	0,68	0	0	348	—	—

Scanned with OKEN Scanner

ANEXA 3

Valorile calorice a principiilor alimentare în alimentaţia omului sănătos

	Greutatea (kg)	Talia (cm)	Calorii	Cal/kg	Proteine	Calorii proteice (x) (%)	Lipide (g) 30–35 din calorii
Bărbaţi							
Sedentari	65	170	2500	38,5	80	12,8	83– 96
Activitate moderată	65	170	3000	46	90	12	100–118
Activitate grea	65	170	4000	61,5	105–115	10,5–11,5	133–155
Femei							
Sedentare	55	157	2100	38	70	13,3	70– 80
Activitate moderată	55	157	2400	43,5	75	12,5	80– 93
Activitate grea	55	157	3000	55	90	12	100–118
Gravide	—	—	2750	—	100	14,5	90–107
Alăptare	—	—	3000	—	115	15,3	100–118
Copii							
1– 3 ani	—	—	1300	—	50	15,4	43–50
4– 6 ani	17,8	107,3	1700	—	60	14,1	56–66
7– 9 ani	24	124	2100	—	70	13,3	70–81
10–12 ani	32,5	139,5	2500	—	80	12,8	83–97
Adolescenţi							
Băieţi							
13–15 ani	44,7	155,5	3000	—	105	14	100–118
16–20 ani	—	—	3600	—	100	14,3	100–118
Fete							
13–15 ani	43,6	154,5	2600	—	100	15,4	86–101
16–20 ani	—	—	2400	—	85	14,2	80– 93

ANEXA 4

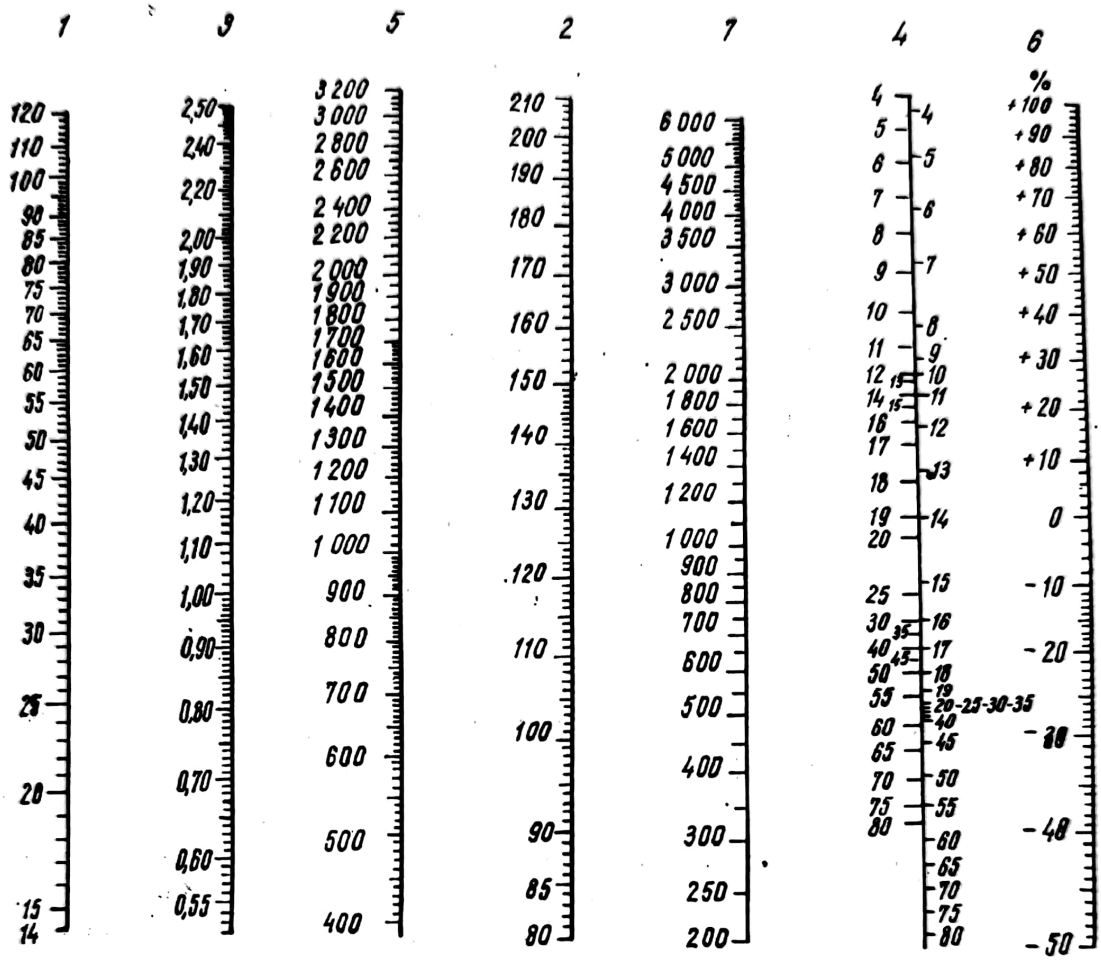
Energia cheltuită în unele forme de activitate musculară (inclusiv metabolismul bazal) (după Gonţea)

Felul activităţii	Calorii/kilocorp/oră
1. *Activităţi domestice*	
Îmbrăcat-dezbrăcat	1,70
Servitul mesei	1,40
Scris, citit la birou	1,40
Aranjarea patului	3,00
Ştergerea prafului	2,70
Curăţat cu mătura	2,40
Curăţat cu mătura de covoare	2,60
Curăţat cu aspiratorul	3,70
Spălatul duşumelelor	2,20
Croşetat	1,40
Tricotat	1,70
Cusut cu mîna sau la maşină cu motor	1,40
Cusut la maşină cu piciorul	1,60
Îmbrăcatul copilului	2,90
Spălat rufe	2,30
Călcat rufe cu fierul	2,00
Strîns masa	2,60
Pregătirea mesei	2,00
Curăţat legume	1,60
Spălat vase	2,00
2. *Activităţi artistice*	
Cîntat (voce puternică)	1,80
Cîntat vioară	1,60
Cîntat violoncel	2,30
Cîntat pian lento	1,80
Cîntat pian moderato	2,40
Cîntat pian alegro	3,00
Cîntat orgă	2,50
Dansat vals	4,00
Dansat foxtrot	5,00
3. *Activităţi profesionale*	1,80
Legătorie (cărţi)	2,50
Vopsirea mobilierului	2,00
Cismărie	1,90
Croitorie	2,00
Dactilografie rapidă	4,25
Curăţat pomi	4,00
Stropit viţa de vie	4,25
Cules fructe	7,00
Săpat pămînt	4,40
Prăşit (f)	8,00
Cosit manual	

Scanned with OKEN Scanner

ANEXA 5

Nomograme pentru calcularea nevoilor calorice zilnice (după Vanzetti şi Gatti)



1 — Greutatea, în kg; 3 — Suprafaţa corporală, în m^2: 5 — Nevoia calorică de bază; 2. — Talia în cm. 7 — Nevoia calorică zilnică: 4 — Vîrsta (B.F.): 6. — Corecţia calorică (adaus sau scădere % la caloriile de bază).

Folosirea nomogramei

Unind cifrele din coloana 1 (greutatea) cu coloana 2 (înălţimea) se obţine o valoare pe coloana 3 (suprafaţa corporală); unind cifra de pe coloana 3 cu coloana 4 (vîrstă, sex) se obţine o valoare pe coloana 5 (nevoia calorică de bază); unind cifra de pe coloana 5 cu „corecţia calorică" de pe coloana 6 se obţine pe coloana 7 cifra care reprezintă nevoia calorică zilnică.

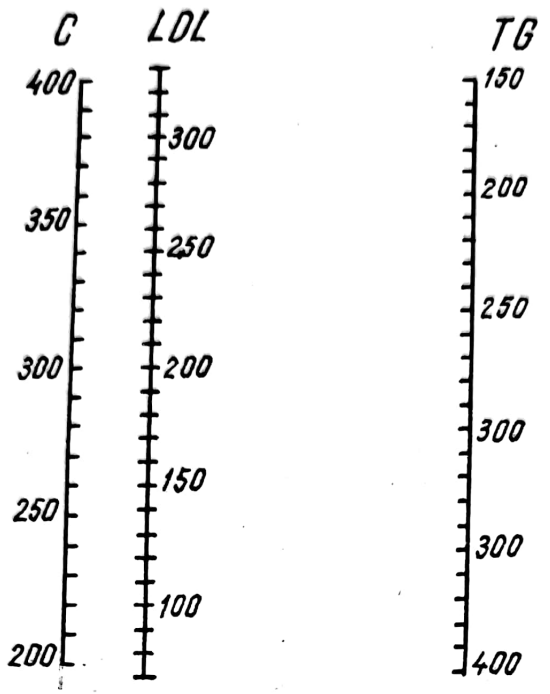
Corecţia calorică în coloana 6 este calculată în procente (%), în funcţie de activitatea fizică depusă, de acţiunea dinamică specifică a alimentelor, de eventualele calorii alimentare neutilizate de organism. Acest procentaj este apreciat astfel:

- repaus la pat: +20% pînă la +30%
- activitate sedentară: +30% pînă la +40%
- activitate fizică uşoară: +40 pînă la +55%
- activitate fizică moderată: +25 pînă la +75%
- activitate fizică grea: +70 pînă la 100%

La persoanele obeze sau denutrite, pentru calculul suprafeţei corporale, nu se foloseşte greutatea reală şi greutatea ideală (teoretică).

ANEXA 6

Nomogramă pentru calculul concentraţiei LDL



Nomogramă propusă pentru determinarea concentraţiei colesterolului din LDL (mg%). Ea derivă din formula : colesterol — LDL = = colesterol — ($\frac{TG}{5}$ + colesterol HDL) unde : colesterolul din HDL este arbitrar apreciat la 45. Prin unirea punctelor care marchează valorile colesterolului şi trigliceridelor se întretaie coloana LDL ; punctul va indica valoarea colesterolului din LDL. În cazul unei hipercolesterolemii şi hipertrigliceridemii (dar care nu depăşeşte 400 mg%) cu valori ale colesterolului din LDL (valori indicate de noi în tabelul V.9.) ne aflăm în prezenţa HLP tip II B (se exclude astfel HLP tip III şi IV).

Scanned with OKEN Scanner

BIBLIOGRAFIE

PARTEA I

1. Manta I. — Biochimie medicală, Ed. didactică şi pedagogică, Bucureşu, 1969.
2. Davenport J. B., Johnson A. R. — În: Biochemistry and Methodology of lipids, sub redacţia A. R. Johnson and J. B. Davenport, John Wiley and Sons Inc. New York City, 1971.
3. Mincu I. — Tratat de dietetică, Ed. medicală, Bucureşti, 1974.
4. Oeriu S. — Biochimie medicală, Ed. didactică şi pedagogică, Bucureşti, 1974.
5. Dumitru I. F., Turcu A. — Biochimie generală, Ed. didactică şi pedagogică, Bucureşti, 1974.
6. Carrey M. C., Small D. D. — *Amer. J. Med.*, 1970, *49*, 5, 590.
7. Carrey M. C., Small D. D. — *Arch. intern. Med.*, 1972, *130*, 4, 506.
8. Gonţea I. — Alimentaţia raţională a omului, Ed. didactică şi pedagogică, Bucureşti, 1971.
9. Mincu I., Boboia Dorina — Alimentaţia raţională a omului sănătos şi bolnav, Ed. medicală, Bucureşti, 1975.
10. Yeejeebhoy K. N. şi colab. — *J. clin. Invest.*, 1976, *57*, 1, 125.

PARTEA A II-A

Capitolul 1.2.

1. Reisel J. H. — În: Hypercholesterolemia and clinical atherosclerosis, Ed. Wytand Zonen N. V., Rotterdam, 1968.
2. Casdorph H. R. şi colab. — *Proc. Soc. exp. Biol.* (*N. Y.*), 1963, 112, 191—194.
3. Gurpide E., Mann J., Sandberg E. — *Biochemistry*, 1964, 9, 1 250.
4. Goodman W. S., Noble R. P. — *J. clin. Invest.*, 1968, 47, 231.
5. Kang J. Ho., Taylor B. C. — În: Treatment of the Hyperlipidemic States, editor Casdorph H. R., Ch. C. Thomas Publisher, Springfield, III., 1972, p. 5.
6. Chobanian A. V., Hollander W., Sullivan M., Colombo M. — *J. clin. Invest.*, 1962, 41, 1 732.
7. Avigan H., Steinberg D., Berman M. — *J. Lipid. Res.*, 1962, 3, 216.
8. Nestel P. J., White H. M., Hoodman D. S. — *J. clin. Invest.*, 1969, 48, 982.
9. Dietschy J. M., Wilson J. D. — *New Engl. J. Med.*, 1970, 282, 20, 1 130.
10. Leontieff W. — Analiza ,,input-output", Ed. ştiinţifică, Bucureşti, 1970.
11. Holt R. R. — *Arch. intern. Med.*, 1972, *130*, 4, 574.
12. Treadwell C. R., Vahouny G. V. — Handbook of physiology, Waverly Press Inc., Baltimore, 1968, vol. III, 1 407.
13. Kaplan J. A., Cox G. E., Taylor C. B. — *Arch. Path.*, 1963, 76, 359.
14. Wilson J. D., Lindsey C. D. Jr. — *J. clin. Invest.*, 1965, 44, 1 805.
15. Grundy S. M., Ahrens E. H. Jr. — *J. clin. Invest.*, 1966, 45, 1 503.

Scanned with OKEN Scanner

83. Etienne J., Cottet J. — *Rev. Athéroscler. suppl.*, 1963, 2, 22.
84. Ferro P. V., Ham A. B. — *Amer. J. clin. Path.*, 1960, 33, 545.
85. Field E. J., Shenton B. K., Joyce G. — *Brit. med. J.*, 1974, 1, 412.
86. Fletcher R. F. — *Clin. Sci.*, 1965, 29, 453.
87. Folch J., Lees M. — *J. biol. Chem.*, 1951, 191, 807.
88. Folch J., Lees M., Stanley G. H. S. — *J. biol. Chem.*, 1957, 226, 497.
89. Fredrickson D. S. — *An. Off. J. Amer. Heart. Ass.*, 1972, 41, 7.
90. Fredrickson D. S. — *Ann. intern. Med.*, 1971, 75, 471.
91. Fredrickson D. S., Lees R. S. — *Circulation*, 1965, 31, 321.
92. Fredrikson D. S., Levy R. I., Lindgren F. T. — *J. clin. Invest.*, 1968, 47, 2 446.
93. Fredrickson D. S., Levy R. I., Lees R. S. — *New Engl. J. Med.*, 1967, 276, 34, 94, 148, 215, 273.
94. Freeman N. K. — *J. Lipid. Res.*, 1964, 5, 236.
95. Freeman N. K., Lindgren F., Nichols Y. Ng., Nichols A. V. — *J. biol. Chem.*, 1957, 227, 44.
96. Frings C. S., Foster L. B., Cohen P. S. — *Clin. Chem.*, 1971, 17, 111.
97. Galloway L. S., Nelson P. N., Willox E. S. — *Clin. Chem.*, 1957, 3, 226.
98. Gastel C., Berg D. D., Gier J., Deenen L. L. M. — *Brit. J. Haemat.*, 1965, 11, 1.
99. Garfinkel A. S., Baker N., Schotz M. C. — *J. Lipid Res.*, 1967, 8, 274.
100. De Gennes J. L., Hamburger J. M., Pequignot H. — *Presse méd.*, 1966, 74, 261.
101. De Gennes J. L Turpin, Truffert J. — *Nouv. Press. méd.*, 1972, 6, 1.
102. Ghosh S. — *Anal. Biochem.*, 1972, 50, 592.
103. Gjone E., Blomhoff I. P. — *Scand. J. Gastroent.*, 1970, 5, 305.
104. Gjone E., Blomhoff I. P., Wienecke I. — *Scand. J. Gastroent.*, 1971, 6, 161.
105. Gjone E., Norum K. R. — *Acta med. scand.*, 1970, 187, 153.
106. Glomset J. A. — *J. Lipid Res.*, 1968, 9, 155.
107. Gofman J. W., Delalla O., Glazier F., Freeman N. K., Lindgren F. T., Nichols A.V., Strisover B., Tamplin A. R. — *Plasma*, 1954, 2, 413.
108. Gofman J. W., Rubin L., McGinley J. P., Jones H. B. — *Amer. J. Med.*, 1954, 17, 514.
109. Gordis E. — *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)*, 1962, 110, 657.
110. Grigaut A. — *C. R. Soc. Biol. (Paris)*, 1900, 68, 791.
111. Hadley G. G., Weiss S. P. — *Amer. J. clin. Path.*, 1955, 25, 1 090.
112. Hanahan D. J., Watts R. M., Pappajohn D. — *J. Lipid. Res.*, 1960, 1, 421.
113. Harlan W. R., Winesett P. S., Wasserman A. J. — *J. clin. Invest.*, 1967, 46, 239.
114. Harlan W. R., Richmond M. D. — *Arch. intern. Med.*, 1969, 124, 64.
115. Hatch F. T., Lees R. S. — *Advanc. Lipid Res.*, 1968, 6, 1.
116. Hatch F. T., Lindgren F. T., Adamson G. L., Jensen L. C., Wong A. W., Levy R. I. — *J. Lab. clin. Med.*, 1973, 81, 6.
117. Hatch F. T., Moore J. L. — *Circulation*, 1967, 36, 16.
118. Havel R. J., Eder H. A., Bragdon J. H. — *J. clin. Invest.*, 1955, 34, 1 845.
119. Heimberg M., Wilcox H. G. — *J. biol. Chem.*, 1972, 247, 875.
120. Hirsch J., Ahrens E. H. — *J. biol. Chem.*, 1958, 233, 311.
121. Hâncu N., Căprioară M. — *Viața med.*, 1973, 20, 12.
122. Holman R. T., Edmondson P. R. — *Anal. Chem.*, 1956, 28, 1 533.
123. Höflmayer H., Fried R. — *Med. u. Ernähr.* 1966, 1, 9.
124. Huang T. C., Chen C. P., Wefler V., Raftery A. — *Anal. Chem.*, 1961, 33, 1 405.
125. Hulley S. B., Cook S. G., Wilson W. S., Nichaman M. Z., Hatch F. T., Lindgren F. T. — *J. Lipid. Res.*, 1971, 12, 420.
126. Iammarino R. M., Humphrey M., Antolik P. — *Clin. Chem.*, 1969, 15, 1 218.
127. Jagannathan S. N. — *Canad. J. Biochem.*, 1964, 42, 566.
128. Kayden H. J. — *Amer. Heart. J.*, 1973, 85, 422.
129. Knüchel F. — *Med. Welt (Berl.)*, 1964, 2 530.
130. Kontinen A. — *Brit. med. J.*, 1963, 1, 850.
131. Kreutz F. H. — *Klin. Wschr.*, 1962, 40, 362.
132. Kudzma D. J., Schonfeld G. — *J. Lab. clin. Med.*, 1971, 77, 384.
133. Kuo P. T., Joyner C. R., Reinhold I. — *J. Amer. med. Ass.*, 1955, 158, 1 008.
134. Kunkel H. G., Ahrens E. H. — *J. clin. Invest.*, 1949, 28, 1 579.
135. Kurzweg G., Massman W. — *Clin. chim. Acta.*, 1962, 7, 515.
136. Lange W., Folzenlogen R. C., Kolp D. G. — *J. Amer. chem. Soc.*, 1949, 71, 1 733.
137. Langer T., Strober W., Levy R. I., *J. clin. Invest.*, 1972, 51, 6.

Scanned with OKEN Scanner

165. Guy S. B., Bour H. — *Gaz. méd. Fr.*, 1970, *77*, 32, 6 871.
166. Felig Ph. — *New. Engl., J. Med.*, 1974, *280*, 24, 1 360.
167. Mincu I., Ionescu-Tirgoviște C. — Stările hiperosmolare, Ed. științifică, București, 1974.
168. Bewsher P. D., Petric J. C., Worth J. H. C. — *Brit. med. J.*, 1970, 3, 82.
169. De Gennes J. L. — *Gaz. méd. Franc.*, 1968, *75*, 15, 3 173.
170. Podolski S. — Idem 48, p. 722.
171. Pavel L. și colab. — *Med. internă* (*Buc.*), 1964, 16, 605.
172. Akamura Y., Kuzuya T., Hayashi M. și colab. — *Europ. J. clin. Invest.*, 1973, 3 136.
173. Bierman E. L., Bagdade J. D., Porte D. Jr. — *Amer. J. clin. Invest.*, 1968, *21*, 12, 1 434.,
174. Distschmneit H. — *Excerpta med.*, ICS., 1971, 231, 526.
175. Vogue P. și colab. — *Excerpta med.* (*Amst.*), 1969, 226.
176. Randle P. J., Gorland P. B., Hals C. — *Lancet*, 1963, 1, 785.
177. Pelkonen R. și colab. — *Diabetes*, 1968, *17*, 2, 76.
178. Bierman E. L. — *Acta diab. lat.*, 1972, 9, suppl. 1, 153.
179. Keen H. — Idem 178, p. 156.
180. Vogelberg K. H., Gries F. A., Dietel J. — *Dtsch. med. Wschr.*, 1973, *98*, 38, 1 758.
181. Bagdade J. D., Bierman E. L., Port D. Jr. — *Diabetes*, 1971, *20*, 10, 664.
182. Ginsberg H., Olefsky J. M. — *Diabetes*, 1974, *23*, 8, 674.
183. Feldman E. B. și colab. — *Amer. J. med. Sci.*, 1974, *268*, 5, 263.
184. Schreibman P. H., Dell R. B. — *J. clin. Invest.*, 1975, *55*, 5, 186.
185. Carlson L. A., Walldins G. — *Acta med. scand.*, 1975, *197*, 4, 295.
186. Ginsberg H. și colab. — *J. clin. Invest.*, 1975, *55*, 3, 454.
187. Galton D. J., Clifton-Bligh P. — *Diabetologia*, 1975, *11*, 4, 343 (Abstr.).
188. Mirouze J., Piperno M., Crastes A. — *Diabetologia*, 1975, *11*, 4, 363 (Abstr.).
189. Nikkilla E. A. și colab. — *Diabetologia*, 1975, *11*, 4, 366 (Abstr.).
190. Berger M., Braumhoff E., Gries F. A. — *Dtsch. med. Wschr.*, 1976, *101*, 9, 307.
191. Yahnke K., Yahnke K. A., Reis H. E. — *Dtsch. med. Wschr.*, 1976, *101*, 3, 73.
192. Brunzell J. D., Hazzard W. R., Motulsky A. G., Bierman E. L. — *Metabolism* 1975, 24, 1115—1121.
193. Pometta D. — *Schwiez. med. Wschr.* 1976, 106, 31, 1054.

Capitolul VI. 10.

1. Aurell M., Cramer K., Rybo G. — *Lancet*, 1966, 1, 291.
2. Wynn V., Doar J. W., Mills G. L. — *Lancet*, 1966, 2, 720.
3. Barclay Marion — In: Blood Lipids and Lipoproteins: quantitation, composition and metabolism, sub redacția Gary J. Nelson, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1972.
4. Sanbaar S. S. — In: Hyperlipidemia — Hyperlipoproteinemia, Little Brown & Co. Inc., Boston, 1969.
5. Barton G. M., Freeman P. R. — *J. Obstet. Gynaec. Brit. Cwlth.*, 1970, 77, 551.
6. Kekki M., Nikkila E. A. — *Metabolism*, 1971, 20, 878.
7. Hazzard W. R., Spiger M. J., Bagdade J. D., Bierman E. L. — *New Engl. J. Med.*, 1969, 280, 471.
8. Beck P. — *Metabolism*, 1973, 22, 841.
9. Lunell N. G., Persson B., Chqvist G. — *Acta obstet. gynec. scand.*, 1973, 52, 23.
10. Davidoff F., Tishler S., Rosoff C. — *New Engl. J. Med.*, 1973, *289*, 11, 552.
11. De Gennes J. L., Turpin G., Truffert J. — *Presse méd.*, 1970, *78*, 12, 541.
12. Spllacy W. N., Carlson K. L., Shode S. L., — *J. Amer. med. Ass.*, 1967, 202, 451.
13. Bălțescu Vl. — *Med. int.* (*Buc.*), 1971, 23, 437.
14. Bagdade J. D., Port D. Jr., Bierman E. L. — *Arch. intern.* Med., 1970, *125*, 1, 129.
15. Porte D. Jr., Bogdade J., Bierman E. — *Ann. intern. Med.*, 1969, *68*, 5, 1 189.
16. Klausner H., Heimberg M. — *Amer. J. Physiol.*, 1967, *212*, 6, 1 296.
17. Schoenfeld M. R., Goldberger E. — *Curr. Ther. Res.*, 1964, 6, 180.
18. Sanbar S. S. — *Metabolism*, 1967, 16, 259.

Capitolul — IV$_a$ 11.

1. Johansson B. G., Laurell C. B. — *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1969, 23, 231.
2. Gustafsson A., Svanborg A. — *Endrocrinology* 1972, 35, 203—207.

Scanned with OKEN Scanner

21. * * — *Circulation*, 1973, 47 (suppl.), 1, 50.
22. * * — *Brit. med. J.*, 1971, 2, 767.
23. * * * — *Brit. med. J.*, 1971, 2, 775.
24. KANCAL W. B., GORDON T. — In: Early Phases of Coronary Heart Diseases, Nordiska Bokhandeln Förlag, Stockholm, 1973, p. 123.
25. KANNEL W. B., DOWBER T. M. — *J. Pediat.*, 1972, *80*, 4, 1, 544.
26. STRONG J. P., MCGILL H. C. — *J. Atheroscler. Res.*, 1969, 9, 251.
27. GIERTSEN J. CH. — *Spectrum Int.*, 1974, *16*, 5, 4.
28. MOGA A., ORHA I., STĂNCIOIU N. — In: Cardiopatiile cronice majore, Ed. Acad. R.S.R., București, 1974.
29. DEWAR H. A. — *Brit. Med. J.* 1971, 4, 767—775.
30. OLIVER M. F. — *Brit. Med. J.* 1971, 4, 775—784.
31. KRASNO L. R., GIDRA G. J. — *J.A.M.A.* 1972, 219, 845—851.
32. CARLSON L. A, ROSSNER S. — *Atheroschrosis*, 1975, 22, 317—324.
33. TSUSHIMA M. și colab. — *Jap. Cirulat. J.* 1975, 39, 3, 285—292.
34. SHIMAMOTO T. — *Jap. Heart J.*, 1975, 16, 1, 76—97.
35. WALTON K. W. și colab. — *Athroschelrosis*, 1976, 23, 227—139.

Capitolul X

1. STAMLER J.— In: Preventive Cardiology, editori Tibblin G., Keys A., Werkö L., Almqvist & Wiksells, Stockholm, 1972, p. 13.
2. BERKOWITZ O. — *Med. Clin. N. Amer.*, 1973, 57, 881.
3. MINCU I. — In: Tratat de dietetică, Ed. medicală, București, 1974, p. 29, 395, 795, 905.
4. CONNOR W. E., CONNOR L. SONYA — In: Treatment of the hiperlipidemic states, editor Casdorphe R. H., Ch. C. Thomas Publisher Springfield Ill., 1972, p. 205.
5. * * * — DHEW Public. nr. (HIN) 73—110, 1974.
6. LEVY R. J., BONNELL M., ERNST N. D. — *J. Amer. diet. Ass.*, 1971, *58*, 5, 406.
7. NIH Conference (R. J. Levy — moderator), *Ann. intern. Med.*, 1972, *77*, 2, 267.
8. IRSIGLER K. (VON), LAGEDER H. — *Münch. med. Wschr.*, 1973, *115*, 15, 667.
9. GRIES F. A., JAHNKE K., PREISS H. și colab. — *Dtsch. med. Wschr.*, 1969, *94*, 4, 45, 2 307.
10. FURMAN R. H. — Idem 4, p. 232.
11. GRENNBERGER N. J., SKILLMAN TH. G. — *New Engl. J. Med.*, 1969, 280, 1 045.
12. SENIOR J. R., VAN HALLE T. B., GREENBERGER N. J. — University of Pensylvania Press, Philadelphia, 1968.
13. BOUR H. — *Ann. Hyg. J. Fr., Med. et Nutrition*, 1971, *7*, 3, 15.
14. CLARK S. B., BRAUSE B., HOLT P. R. — *Gastroenerology*, 1969, 56, 214.
15. CARDORPH H. R. — Idem 4, p. 243.
16. VLAICU R. — *Viața med.*, 1964, *21*, 12, 531.
17. WOLFROM G. (Von) — *Münch. med. Wschr.*, 1973, 116, 15.
18. LEVY R. J., MORGANROTH J., RIFKIND B. M. — *New Engl. J. Med.*, 1974, 290, 23, 1 295.
19. NAZIR D. J., HORLIC L., KUDCHODKAR B. J., SODHI H. S. — *Circulation*, 1972, *46*, 1, 95.
20. LEVY R. J. și colab. — *Ann. intern. Med.*, 1973, *79*, 1, 51.
21. LEVY R. J., LANGER T. — In: Pharmacological Control of Lipid metabolism, editori Holmes W. L., Paoletti R., Kritchevscky O., Press Inc. New York, 1972, p. 155.
22. FREDRIKSON D. S. — *Hosp. Pract.*, 1968, *3*, 6, 54.
23. HANCU N. — Contribuții la studiul hiperlipidemiei în diabetul zaharat, Zeză de doctorat, I.M.F. Cluj-Napoca, 1971.
24. FURMAN R. H. — Idem 4, p. 268.
25. WHITE L. W. — *J. Pharmacol. exp. Ther.*, 1971, 178, 361.
26. GRUNDY S. M., AHRENS E. H. JR., SALEN G. — *J. clin. Invest.*, 1969, 48, 33 a.
27. HORLICK L.L., KUDCHODKAR B. J., SODHI H. S. — *Circulation*, 1971, 43, 299.
28. RIFKIND B. M. — *Metabolism*, 1966, 15, 673.
29. HUNNINGHOKE D. B., AZARNOFF D. L. — *Metabolism*, 1968, 17, 588.
30. ADAMS L. L., WEBB W. E., FALLON H. J. — *J. clin. Invest.*, 1971, 50, 2 339.
31. SODHI H. S., KUDCHODKAR B. J., HORLICK L. — *Metabolism*, 1971, 20, 309.

Scanned with OKEN Scanner

CLINICAL LIPIDOLOGY

I. HYPERLIPOPROTEINEMIAS

SUMMARY

INTRODUCTION

Clinical lipidology is designed to the study of the role of lipids in the life of healthy and sick subjects. This implies the study of food lipids, the biochemical behaviour of lipids and lipoproteins, their role in human pathology, particularly in hyperlipidemia — hiperlipoproteinemia (HL—HLP states), obesity, dominated however by atherosclerosis. In its implications, clinical lipidology is tangent to medical biochemistry, alimentary hygiene, the diseases of nutrition and metabolism. Within this framework, its implications extend to genetics. pediatrics, preventive clinical and therapeutical cardiology, the epidemiology and prophylaxis of chronic non-communicable diseases, clinical pharmacology. In its prospective longitudinal dimensions, clinical lipidology will contribute to the elucidation of one of the most severe human arterial diseases — atherosclerosis.

Clinical lipidology has become an objective necessity, resulting from modern socio-economic conditions, from prosperity, but also from the aggressive impact of man-environment, man-society relationships.

Lipidology is not a discovery but a conceptual reconsideration of the multidisciplinary progress made following the retrospective and present requirements of atherosclerosis, which threatens the human biosocial potential, and its prevention.

The scientific individualization of clinical lipidology appears as a necessity for the following reasons :

(1) Increase in the mortality and morbidity rate from atherosclerosis is a characteristic phenomenon of the developed or developing countries.

(2) Among the atherogenic risk factors, disorders of lipid and lipoprotein metabolism cannot be questioned, and to these may be added the contribution of genetic of ecologic factors (alimentary, sedentary life, psychical stress etc.).

(3) Lipid and lipoprotein metabolic imbalance often has a clinical-biochemical correspondence : obesity, lipoidosis, HL-HLP states.

(4) Basic study of these metabolic disturbances with an actual atherogenic potential requires unification of our knowledge concerning facts deriving from multidisciplinary investigations (clinical lipidology as a theoretical concept), and its statutory organization (sections of clinical lipidology in the clinics of nutrition and metabolic diseases, and its introduction on the curriculum of medical faculties).

„Clinical Lipidology" is separated into two parts : part I includes the study of alimentary lipids, the biochemical behaviour of human lipids and lipoproteins, plasma lipid and lipoprotein pathology, and part II, tissular lipid and lipoprotein pathology : lipoidosis, obesity. In both parts constant reference is made to atherosclerosis.

Scanned with OKEN Scanner

This monograph is written „by clinicians... for clinicians" for the modern nutritionist, whose knowledge is based upon classical clinical concepts and laboratory sudies. A physician with such a professional background is the man to be entrusted with the prevention and treatment of this type of morbidity and mortality brought about by atherosclerosis.

PART I

CHAPTER I — GENERAL: LIPIDS, THEIR DEFINITION, CLASSIFICATION AND NOMENCLATURE

Lipids may be defined as substances soluble in organic solvents or insoluble in water. Chemically, they may contain fatty acids or are only isoprene derivatives, such as sterols or carotenoids. This is a general definition since there are many exceptions to the rule.

The classification of lipids is briefly discussed. On the basis of Bloor's scheme, drawn up in 1941, lipids may be separated as follows :

— neutral lipids (or simple),
— amphiphyll lipids (or complex),
— redox lipids.

Functionally, there are :

— reserve lipids (especially adipocytes),
— cell constitution lipids.

Carrey and Small, in terms of the physical lipid-water relationship, differentiate:

— type I lipids : triglycerides, diglycerides, vitamins A, D, E, K, cholesterol ;
— type II : phospholipids, cerebrosides, monoglycerides ;
— type III : aliphatic amphyphylls, with two classes.

A including soaps, detergents and lysolecithin, and B including micelle-forming lipids (biliary salts).

The purpose of this monograph and its readership determined us to adopt the terms used in the classical treatises of biochemistry.

CHAPTER II : ALIMENTARY LIPIDS

Fats in foods are heterogenous products made up of a complex containing chiefly glycerides, next to cerides, sterols, resins, protein and mucilaginous substances, vitamins and pigments (chlorophyll, carotene, xanthophyll etc.).

According to their origin fats and oils may be classed into : animal, vegetal and mixed, each category containing fluid or solid types at the usual temperatures.

Animal fats are :

— fluid : olive oil, the oils of maize kernels sunflower, pumkin etc. ;
— solid : (only in land animals) : suet, lard, butter, the fat of fowl.

Plant oils are :

— fluid : olive oil, the oils of maize kernels sunflower, pumkin etc.
— solid : cocoa oil, palm oil.

Fats of mixed origin : margarine.

A description is given of the physical and chemical properties of these fats and processing of the main food oils used in Romanian cooking (butter, suet, lard, fowl fat, fish oil, vegetal oils, margarine, hydrogenated fats). The fats contained in eggs, meat, milk and the lipids of parenteral nutrition are likewise discussed. A subchapter refers to the role of lipids in the rational alimentation of the healthy man.

PART II

CHAPTER I.

I.1. *Serum lipids: General*, is an introduction into the mode of transport of serum lipids in the from of lipoproteins, next to free fatty acids (FFA).

Scanned with OKEN Scanner

I.2. *Cholesterol and biliary acids*

I.2.1. *General aspects*

Cholesterol is an isoprenic derivative (see formula fig. 1.2.1.). In plasma it circulates in esterified form with fatty acids or in non-esterified form (free cholesterol). In the human organism, cholesterol is of importance as it is a structural element of the cellular membranes and of lipoproteins, and also a precursor of steroid hormones, biliary acids and salts, cholecalciferol.

I.2.2. *The dynamics of cholesterol in the organism*

Kinetic studies have shown the existence of three main pools of human cholesterol : with a rapid rate of exchange (30 g cholesterol), with a slow rate of exchange (50 g cholesterol), and the virtually fix poll (60 g cholesterol). The turnover of cholesterol is of 1 g/24 h. The input sequence of cholesterol metabolism (absorption of nutritional cholesterol and cholesterol synthesis) affects the rapid exchange rate pool, whereas the output sequence (cholesterol catabolism and elimination) affects the slow exchange rate pool.

I.2.3. *Input sequence in cholesterol metabolism, absorption and synthesis*

Sequences in the absorption of cholesterol and its quantitative and regulation aspects were studied by isotope and by chemical clearance methods or by combining the two methods.

Absorption of cholesterol takes place in the jejunum, the site of optimal conditions for its production in the presence of bile and pancreatic juice. At this level there is a daily absorption of 2.4 g cholesterol, i.e. 1 g exogenous cholesterol absorbed in a proportion of 25% (250 mg), 1 g endogenous cholesterol (biliary cholesterol) or that deriving from desquamation of the intestinal epithelium (400 mg), absorbed in a proportion of 50%.

The stages of cholesterol absorption are : hydrolysis of cholesterol esters in the intestinal lumen by pancreatic cholesterolesterase, micellization of free cholesterol under the action of bile acids and salts, penetration of cholesterol in the intestinal epithelium cells, intracellular transfer of cholesterol which is re-esterified, its participation in the formation of chylomicrons with which it penetrates into the lymphatic vessels. Although the absorption of cholesterol is a reduced process from the quantitative point of view in comparison to triglycerides, no evidence was found of a negative feedback mechanism in the course of this stage.

The sequences of cholesterol synthesis are then described, with particular emphasis on the role of leucine and some amino acids in this process, and of protein carrier sterols in the conversion of squalene to cholesterol under the action of the multienzymatic complex.

The regulation of hepatic and extrahepatic cholesterol synthesis is viewed from the angle of intracellular (influence on HMG-reductase, inhibition by the final product) and extracellular mechanisms. The latter, which are particularly complex, refer to the influence of nutritional cholesterol, food calorie supplies and functional integrity of the enterohepatic circuit. Thus, a hypercholesterolemia-inducing diet and hunger lower the synthesis of cholesterol in the liver and to a lesser extent in the intestine, Bile acids reduce cholesterol synthesis both in the liver and intestine by mechanisms that have not yet been elucidated.

I.2.4. *Output sequence in cholesterol metabolism : The catabolism and elimination of cholesterol*

The output sequence of cholesterol metabolism includes its elimination through the feces in the form of neutral sterols (500—1 000 mg/24 h), and its transformation into bile acids and further elimination as (50—100 mg/24 h).

Scanned with OKEN Scanner

Primary and secondary bile acids or their conjugated forms (bile salts) fulfill very important functions in the body (digestion and absorption of lipids, regulation of cholesterol metabolism).

This section also deals with the general mechanisms of bile acid biosynthesis, their enterohepatic circuit and control of these processes by negative feed-back, of the bile acid-bile acid type, and positive feed-back, of the cholesterol-bile acid type.

Finally, the general regulation of cholesterol metabolism is analyzed by a kinetic multicompartmental model and approached from the standpoint of the concept of the ana-and catabolic pool of cholesterol metabolism.

I.3. *Fatty acids and triglycerides*

I.3.1. *Generalities on fatty acids*

The definition, nomenclature, classification and functions of fatty acids in the human body are discussed.

I.3.2. *The kinetics of free fatty acids (FFA)*

This section is of particular importance for the role played by FFA in the production of energy. Details are given concerning the general dynamics of FFA (release from the synthesis organs or from plasma protein triglycerides, their transport to metabolizing organs and uptake by these organs). The subject of FFA pools and turnover in the human organism is approached, as well as the different methods of study in this connection.

I.3.3. *The input sequence of fatty acid metabolism : the biosynthesis of fatty acids*

The human body synthesizes saturated fatty acids and part of the unsaturated ones with a double bond. Saturated fatty acids are synthesized in two ways: in the cytoplasm, starting from acetyl-CoA, and in the mitochondria, by lengthening the chain of some preformed fatty acids. Detailed reference is made to the sources of acetyl-CoA, enzymatic contribution (acetyl-CoA carboxyquinase and fatty acid synthetase), the role of reductor equivalents, the regulation of cytoplasmatic fatty acid biosynthesis.

I.3.4. *The output sequence of fatty acid metabolism*

This section includes oxidative degradation of fatty acids, oxidizing enzymatic system, transmembrane-mitochondrial transport, intracellular regulation of fatty acid beta-oxidation are likewise dealt with.

I.3.6. *Triglycerides*

The definition and nomenclature of triglycerides is discussed, as well as the stages of their biosynthesis in the course of the input sequence (1.3.7) and lipolysis, its sequence and the necessary enzymatic system in the output sequence (1.3.8).

I.3.9. *Integration of the metabolism of fatty acids and triglycerides*

This subchapter includes :

— The metabolism of fatty acids and triglycerides in the liver (working methods, glycerides and fatty acids in the human liver tissue, the origin of fatty acids and triglycerides in the liver, their intrahepatic metabolic fate, lipid and lipid-glucoprotein interrelations in the liver) ;

— The metabolism of fatty acids and triglycerides in the adipose tissue : structure of the adipose tissue, methods of investigation, composition of the

Primary and secondary bile acids or their conjugated forms (bile salts) fulfill very important functions in the body (digestion and absorption of lipids, regulation of cholesterol metabolism).

This section also deals with the general mechanisms of bile acid biosynthesis, their enterohepatic circuit and control of these processes by negative feed-back, of the bile acid-bile acid type, and positive feed-back, of the cholesterol-bile acid type.

Finally, the general regulation of cholesterol metabolism is analyzed by a kinetic multicompartmental model and approached from the standpoint of the concept of the ana-and catabolic pool of cholesterol metabolism.

I.3. *Fatty acids and triglycerides*

I.3.1. *Generalities on fatty acids*

The definition, nomenclature, classification and functions of fatty acids in the human body are discussed.

I.3.2. *The kinetics of free fatty acids (FFA)*

This section is of particular importance for the role played by FFA in the production of energy. Details are given concerning the general dynamics of FFA (release from the synthesis organs or from plasma protein triglycerides, their transport to metabolizing organs and uptake by these organs). The subject of FFA pools and turnover in the human organism is approached, as well as the different methods of study in this connection.

I.3.3. *The input sequence of fatty acid metabolism : the biosynthesis of fatty acids*

The human body synthesizes saturated fatty acids and part of the unsaturated ones with a double bond. Saturated fatty acids are synthesized in two ways: in the cytoplasm, starting from acetyl-CoA, and in the mitochondria, by lengthening the chain of some preformed fatty acids. Detailed reference is made to the sources of acetyl-CoA, enzymatic contribution (acetyl-CoA carboxyquinase and fatty acid synthetase), the role of reductor equivalents, the regulation of cytoplasmatic fatty acid biosynthesis.

I.3.4. *The output sequence of fatty acid metabolism*

This section includes oxidative degradation of fatty acids, oxidizing enzymatic system, transmembrane-mitochondrial transport, intracellular regulation of fatty acid beta-oxidation are likewise dealt with.

I.3.6. *Triglycerides*

The definition and nomenclature of triglycerides is discussed, as well as the stages of their biosynthesis in the course of the input sequence (1.3.7) and lipolysis, its sequence and the necessary enzymatic system in the output sequence (1.3.8).

I.3.9. *Integration of the metabolism of fatty acids and triglycerides*

This subchapter includes :

— The metabolism of fatty acids and triglycerides in the liver (working methods, glycerides and fatty acids in the human liver tissue, the origin of fatty acids and triglycerides in the liver, their intrahepatic metabolic fate, lipid and lipid-glucoprotein interrelations in the liver) ;

— The metabolism of fatty acids and triglycerides in the adipose tissue : structure of the adipose tissue, methods of investigation, composition of the

Scanned with OKEN Scanner

adipose tissue in triglycerides and fatty acids, sources of fatty acids and triglycerides in the adipose tissue and their metabolization at this level (lipogenesis and lipolysis), structural and biochemical compartmentalization of the adipocyte ;

— the metabolism of fatty acids and triglycerides in the muscles.

I.4. *Phospholipids*

The nomenclature, classification and role of phospholipids in the human body are discussed (I.4.1). Section I.4.2. concerns phospholipid pools and kinetics. The input sequence of phospholipid metabolism (I.4.3) includes : the synthesis of phosphatidcholine, phosphatidylethalamine, sphingomyelin and phospholipid interconversion. The topochemistry and regulation aspects of synthesis are likewise dealt with.

The output sequence is less known, and refers to the catabolism of phospholipids or their participation in the synthesis of lipoproteins.

CHAPTER II — **LIPOPROTEINS**

II.1. In a general outline the authors give the definition, history, classification principles, structure of lipoproteins and nomenclature of apolipoproteins.

II.2. *Chylomicrons*

This section includes the definition, physiochemical characteristics and chemical composition (lipid and protein) of chylomicrons:

Details are given concerning :

— the input sequence of chylomicron metabolism, their mechanism of formation, the digestion and absorption of lipids ;

— the output sequence with reference to the gradual hydrolysis of chylomicron glycerides and catabolism of chylomicron remnants ; the relations of chylomicrons with the vascular endothelium and data on various lipoproteinlipases.

II.3. *Very low density lipoproteins (VLDL)*

VLDL are defined and their physico-chemical properties described, with particular emphasis on their heterogeneity.

The input sequence of VLDL metabolism deals especially with their synthesis in the liver, intestine and arterial wall ; the supply and synthesis of the lipid component, the synthesis of apoproteins, their coupling with lipids, VLDL secretion and pertinent regulation aspects (the role of cholesterol and fatty acids).

The output sequence of VLDL metabolism includes the catabolism of the lipid (due to the activity of lipoproteinlipases and LCAT) and protein component (apoprotein exchanges during this process).

II.4. *Low density lipoproteins (LDL)*

After defining LDL a description is given of their physicochemical characteristics, lipid and protein composition and polypeptide heterogeneity, followed by analysis of the input and output sequence of their metabolism. The two hypotheses of the origin of plasma LDL are discussed : synthesized and secreted in the liver or deriving from VLDL following catabolism of the latter.

II.5. *High density lipoproteins (HDL)*

The definition of HDL is followed by a description of their physico-chemical properties, and lipid and apoprotein content.

The input sequence in HDL metabolism is analyzed: their synthesis and secretion in the liver, next to their production in the course of HDL catabolism.

Scanned with OKEN Scanner

The output sequence is practically unknown.

Details are given concerning the structure, physicochemical properties and mechanism of action of LCAT. In view of the role played by the esterification of cholesterol particular emphasis is laid on this important process for the human body.

II.6. *Ultracentrifugation residue*

The chemical composition of the ultracentrifugation residues is described.

CHAPTER III — INTEGRATION OF LIPID AND LIPOPROTEIN METABOLISM IN THE GENERAL METABOLIC FUNCTION OF THE BODY

III.1. *General aspects*

Lipid and lipoprotein metabolism plays an outstanding role in the energy homeostasis of the human body. This function involves the integration of lipid and lipoprotein metabolism in the great functions of the body next to carbohydrate, protein and hydroelectrolytic metabolism, and develops either by pure intermetabolic correlations (carbohydrate-lipido-protein) or by integration of the functional effects of their metabolism.

This didactic separation is fortuitous since it is virtually the same process. Integration takes place by several pathways : hormones, nervous system, alimentation, that act upon a determined genetic background.

III.2. *The kinetics of lipids and lipoproteins*

Although the kinetics of cholesterol and FFA has already been discussed, the general kinetics of triglycerides is taken up again in this section, starting with the kinetics of lipoproteins. The „movement" of the protein component is insufficiently known.

The problem is approached of the correlative kinetics of plasma lipoproteins and cholesterol within the „anabolic and catabolic" cholesterol pool.

Methods for study of the kinetics of triglycerides and various models are also discussed, summing up in a table the main parameters of the kinetics of triglyceride (table III.2.1.)

III.3. *The role of hormones in the regulation of lipid and lipoprotein metabolism*

III.3.1. *The general mechanism of action of hormones*

Several details are dealt with concerning especially the concept of the second messenger (adenylcyclase-cAMP-phosphodiesterase).

III.3.2. *The role of insulin in lipid and lipoprotein metabolism*

The role of insulin is particularly complex and acts along three more important pathways : it favours the transmembrane transport of glucose, amino acids, electrolytes, it induces the synthesis of some enzymes, and influences their activity via intracellular cAMP. The action of insulin may differ according to the topography.

In the liver, insulin :

— activates glycogenesis, glycolysis, protein synthesis, the production of reduced nucleotides necessary for the synthesis of fatty acids ;

— lowers gluconeogenesis (GNG), the urea cycle, glycogenolysis and lipolysis ;

— increases the synthesis of triglycerides consequent to the increased availability of alpha-glycerophosphate, the synthesis of fatty acids, decreases their

Scanned with OKEN Scanner

oxidation and the inhibition of triglyceride lipolysis ; an increase in the hepatic secretion of VLDL and LDL under the action of insulin is admitted but with certain reserves.

The relationship insulin-FFA and insulin-ketogenesis is discussed.

In the human adipose tissue insulin has the following effects :

— increases the synthesis of triglycerides due to the increased availability of alpha-glycerophosphates ;

— decreases lipolysis ;

— increases lipoproteinlipase activity and therefore the uptake of FFA from VLDL chylomicrons.

These effects depend upon the adipocyte volume. An increased volume gradually becomes more sensitive to the action of insulin. It is considered that although, in the human adipose tissue fatty acids are present, they are virtually of no use in the production of energy, or for lipid and lipoprotein levels in the blood.

In the *muscular tissue* insulin stimulates the reesterification of alpha-glycerophosphate and the formation of triglycerides concomitant with the reduction of lipolysis.

The relation of insulin to lipoproteinlipase activity is discussed, as well as the role of lipids in insulin secretion.

III.3.3. *The role of glucagon in lipid and lipoprotein metabolism*

Glucagon is considered to be the hormone of energy requirements, which implies its intervention in carbohydrate and lipid metabolism, especially in the liver, adipose tissue and muscles. its main effects are : stimulation of lipolysis in the liver and adipose tissue and of hepatic ketogenesis.

III.3.4. *The role of catecholamines in lipid and lipoprotein metabolism*

The principal metabolic effects consist of the stimulation of glycogenolysis and lipolysis. Details are given concerning the aspects linked to the stimulation of lipolysis in the adipocyte.

III.3.5. and III.3.6. *The role of glucorticoids and ACTH in lipid and lipoprotein metabolism*

The main action of these hormones stands in the stimulation of lipolysis at adipocyte level (delayed stimulation and ketogenesis in the liver).

III.3.7. *The role of STH in lipid and lipoprotein metabolism*

Two STH components are known : somantine, with a lipolytic, diabetogenic, ketogenic action, and cataglykin with an antilipolytic and antidiabetogenic action.

III.3.8. and III.3.9. *The role of thyroid and thyrotropic hormones in lipid and lipoprotein metabolism.*

The principal action of these hormones in the stimulation of lipolysis in the adipose tissue and the influence exercised on cholesterol ana- and catabolism.

III.3.10. *The role of sexual hormones in lipid and lipoprotein metabolism*

The role of these hormones has only partly been elucidated by the study of serum lipid and lipoprotein variations in various decades of age in women, in pregnancy, in different phases of the menstrual cycle, during treatment with sexual hormones (including anticonceptional drugs), in dysgonad pathology.

Scanned with OKEN Scanner

III.3.11. *The role of prostaglandins in lipid and lipoprotein metabolism*

The role of prostaglandins is still subject to controversy since the main action of these hormones at the level of the adipocyte differs in terms of working conditions : *in vivo* evidence is found of hyperlipolysis, *in vitro* lipolysis is inhibited.

III.3.12. *The role of lipotropins in lipid and lipoprotein metabolism*

The main actions of lipotropins are : hyperlipolysis, hyperketogenesis, insulinotropic effect.

III.4. *The role of nutrition in lipid and lipoprotein metabolism*

III.4.1. *The influence exercised by nutritional fats, carbohydrates and proteins on serum lipids and lipoproteins is discussed.*

III.4.2. *The influence of food on lipid and lipoprotein metabolism is analyzed in terms of postprandial and postabsorption conditions* (immediate, short or long duration inanition), showing the role of food, the consecutive hormonal reaction and metabolic changes in the liver and adipose tissue in each circumstance.

III.5. *Role of the nervous system in the regulation of lipid and lipoprotein metabolism*

Under physiologic conditions, the nervous system interferes in the regulation of lipid and lipoprotein metabolism in three ways :
— regulation of alimentary behaviour,
— regulation of the mobilization of lipids (of lypolysis)
— regulation of hormonal secretion.
Each of these aspects is commented.

III.6. *The dynamics of lipid and lipoprotein metabolism integration correlated with age*

The statistical biochemistry or dynamics of lipids and lipoproteins varies qualitatively and quantitatively with age. The main changes occurring in the growth period and senescence are discussed.

III.7. *General conclusions*

As the final rationale of lipid and lipoprotein metabolism in the human body is the homeostasis of energy, the authors briefly review the formation and mobilization of energy reserves, as well as the energy value of lipids resulting from their oxidation in the organism.

CHAPTER IV. EXPLORATION OF BLOOD LIPIDS AND LIPOPROTEINS

In the introduction the problem of standardization in lipidology is approached. Details are given concerning the collection and storage of blood, and lipid extraction.

A vast subchapter deals with the determination of lipids in the blood (cholesterol triglycerides, phospholids, total lipids) and of FFA. Several methods are critically analyzed from the viewpoint of cost and the readiness with which they are performed.

The determination of serum lipoproteins is another very important subchapter, including electrophoresis on different media, ultracentrifugation, nephelo-

Scanned with OKEN Scanner

metry, immunochemistry and precipitation ; electrochromatography is likewise discussed.

Separate subchapters deal with the methods applied for the determination of LCAT activity, lipoproteinlipase, tolerance to fats, methods of exploration of lipolysis applicable at the patient's bedside.

CHAPTER V. THE NOSOLOGY OF HYPERLIPIDEMIA — HYPERLIPOPROTEINEMIA STATES

V.1. *Introduction, definition of HL-HLP*

Hyperlipidemia is defined by an increase in cholesterol and/or serum triglycerides, and hyperlipoproteinemia by quantitative changes of serum lipoproteins. An exception to this rule is the case of type III HLP, which has to be defined by qualitative parameters. Mention is made of the contribution of Fredrikson and Levy to the modern concept of HL-HLP states.

V.2. *The classification of HL-HLP*

The classification of HLP is in keeping with the principles proposed by the WHO Expert Committee (an improved variant of the initial classification of Fredrikson and Levy) ;

— HLP type I : characterized by the presence of chylomicrons and hypertriglyceridemia in the plasma of subjects after 12 hours fasting ;

— HLP type IIa : characterized by increase in serum LDL and cholesterol ;

— HLP type IIb : characterized by increase in serum LDL and VLDL, predominant cholesterolemia and triglyceridemia ;

— HLP type III : characterized by the presence of abnormal lipoproteins (beta-VLDL or LDL) ;

— HLP type IV : defined by an increase in VLDL and triglyceridemia ;

— HLP type V : characterized by an increase in VLDL, by the presence of chylomicrons and hypertriglyceridemia.

Each HLP type is necessary for defining the etiologic form : primary (familial or nonfamilial) and secondary.

The arguments for, and against this classification are discussed, mention also being briefly made of other HL-HLP classifications.

V.3. *Stages in the diagnosis of HL-HLP states*

These are : the clinical examination, paraclinical exploration, interdisciplinary consultation, eventual dietetic testing.

Details are given concerning the paraclinical exploration of a patient with HL-HLP based upon the principles established by the W.H.O. The main object is determination of the serum lipoprotein type, either by direct ultracentrifugation or by corroboration of the data furnished by cholesterolemia, triglyceridemia, chylomicron test, lipoprotein quantification (homograms, quantitative formulas or lipidograms).

The diagnosis should include the following :

— disease : hyperlipoproteinemia

— type : I—V

— etiologic form : familial primary, non-familial primary, secondary (in which case the diagnosis of the basic disease has to be mentioned).

V.5. *General hyperlipidemia — hyperlipoproteinemia inducing mechanisms*

Many hyperlipidemia — hyperlipoproteinemia causes and pathways, with varied intricate possibilities are known, but not all have been elucidated.

Two of the major etiologic factors recognised are :

— The genetic factor, as a rule polygenomic ;

Scanned with OKEN Scanner

— The acquired ecologic factor (alimentary, stress, alcohol, iatrogenic factors, diseases with a HL-HLP potential).

The pathways by which these factors act are : the nervous system, hormonal system, digestive, but in many cases they may be mixed.

The pathometabolic finality is essentially represented by a sequential kinetic imbalance of the excedentary input> output type, in lipid metabolism and that of the major lipoprotein classes.

CHAPTER VI. **PRIMARY HYPERLIPOPROTEINEMIA**

On the basis or the recommendations of the W.H.O. and the authors experience, they include in this group familial HLP, HLP produced by qualitatively and quantitatively excessive pathoalimentation, excess alcohol, stress, pancreatitis, some drugs, the HLP of obesity and diabetes mellitus.

VI.1. *Familial HLP type I*

The disease is very rare and defined as a massive hyperchylomicronemia in the presence of a normal caloric and quantitative diet. The biochemical picture is improved by a „lipid-free" diet.

The clinical picture is characterized by episodes of abdominal pain, eruptive xanthomas, lipemia retinalia, hepatosplenomegaly. The onset occurs within the first weeks or months after birth, at the latest within the first few years.

The biochemical picture is marked by hyperchylomicronemia, massive hypertrigliceridemia, positive chylomicron test and low lipoproteinlipase activity.

The major and minor diagnostic criteria applicable in the case of homo- and heterozygote phenotypes are discussed.

Pathologic biochemistry and physiology : the disease is caused by inefficient tissular lipoproteinlipase activity (triglyceridelipase), an inherited anomaly, the expression of a double autosomal mutant allele. The mechanism of production of foam cells and the causes of abdominal pains are analyzed.

VI.2. *Familial HLP type II*

Familial HLP type II is an inborn disease characterized by an increase in plasma LDL concentration. Two forms are known : type II a in which there is an increase in LDL or hypercholesterolemia accompanied by hypertriglyceridemia. In both circumstances there are homo- and heterozygotes. The incidence of the disease is fairly high.

Clinical picture : the main clinical and biochemical characteristics observed in our patients are given in tables VI.2.1, V.2.2. and VI.2.3.

The major and minor diagnostic criteria are discussed in the case of homo- and heterozygosis.

The incidence of cardiovascular pathology is commented with reference to some cross-sectional and longitudinal statistics.

Among the mechanisms of production mention may be made of changes in the composition and turnover of LDL, increase in the input sequence and decrease in the output sequence of cholesterol metabolism. No satisfactory explanation exists in the case of HLP type IIb.

Genetically, HLP type II is considered an inborn, dominant, autosomal disease with incomplete penetrance and variable expression. The anomaly is polygenic.

VI.3. *Familial HLP type III*

Is rare and characterized by the presence in the plasma of a detectable amount of abnormal VLDL, i.e. beta-VLDL, with concomitant hypercholesterolemia and hypertriglyceridemia. The disease appears between the ages of 24 and 54 years.

Scanned with OKEN Scanner

The clinical and biochemical picture is summed up in tables VI.3.1 and V.3.2.

The criteria of the phenotype diagnosis and pathogenetic hypotheses are discussed.

VI.4. *Familial HLP type IV*

Familial HLP type IV is a very frequent form, characterized by increase in plasma VLDL and triglyceride levels.

Table VI.4.1. and V.4.2. give the clinical particularities, serum lipid and lipoprotein spectrum of the authors' cases of HLP type IV. The major and minor diagnostic criteria of the phenotype are discussed, as well as the genetic aspects of the disease.

VI.5. *Familial HLP type V*

It is a rare form characterized by increase in plasma VLDL concentrations, with the concomitant presence of chylomicrons in basal conditions. Hypertriglyceridemia is the normal consequence of this anomaly.

Tables VI.5.1 and V.5.2 give the clinical and biochemical particularities of familial HLP type V patients cared for in an out-patient unit. The diagnostic criteria are discussed, Genetically, the coexistence of type I and V within the same family is of particular interest.

Sections VI.6, VI.7, VI.8 and 6.10 concern HLP pancreatitis, alcoholism, psychic stress and iatrogenic HLP, its incidence in these diseases, biochemical picture and pathogenetic mechanisms. The reasons for which they are listed in the group of primary HLP are shown.

VI.9. *HLP in diabetes mellitus, obesity and excess pathoalimentation*

This primary HLP group has a high incidence. It is treated as a group for the following reasons :

— clinical : frequent association of obesity (caused by an unbalanced diet, both qualitatively and quantitatively) with diabetes mellitus and HLP ;

— pathogenetic, the existence of certain pathogenetic relationships between these diseases ;

— epidemiological : wide spread investigations have demonstrated the increased penetrance of this group of diseases in the general population.

Tables VI.9.2—4 and V 9.9—9 give the clinical particularities, lipid and lipoprotein spectrum of HLP in obesity and diabetes mellitus.

A vast section (VI.9.4.) is dedicated to HLP mechanisms in excess pathoalimentation, obesity and diabetes mellitus.

Systematically, these mechanisms may be presented as follows :

A. Hyperlipoproteinemia-inducing mechanisms in excess, unbalanced diet and obesity :

— the role of an alimentation that is normocaloric but rich in carbohydrates ;

— the role of an alimentation that is normocaloric but rich in saturated neutral lipids and cholesterol ;

— the role of hypercaloric alimentation.

In each case the hormonal, metabolic and kinetic alterations are discussed.

— The metabolic alterations in simple, established obesity.

B. Hyperlipoproteinemia-inducing mechanisms in diabetes mellitus :

— metabolic alterations in diabetes mellitus ;

— hyperlipoproteinemia mechanisms in maturity onset and juvenile diabetes, prediabetes, latent diabetes mellitus, chemical diabetes, ketoacidotic and hyperosmolar coma, lipoatrofic diabetes.

It is concluded that in diabetes mellitus, the constelation of multiple HLP mechanisms act asymmetrically and asynchronously.

Scanned with OKEN Scanner

C. The relations between HLP and obesity and diabetes mellitus are analysed from the pathogenetic point of view. To date, great importance is paid to hypertrophy of the fat cells as common pathogenetic element. The weight of the factors that induce increase in the volume of the fat cells differs, being conditioned genetically or by acquired factors. These aspects are discussed in detail.

CHAPTER VII. SECONDARY HYPERLIPOPROTEINEMIA

Secondary HLP forms a heterogenous group whose actual frequency is not known. The clinical picture is dominated by the basic disease and, from the biochemical point of view, it is characterized by varied HLP types. Pathogenetically, the authors discuss the possible existence of latent disturbances in the polygenomic control of lipid and lipoprotein metabolism, that become active in HLP following summation of the new pathogenic conditions of the basic disease.

The importance of secondary HLP derives from its atherogenic potential, especially in the case of chronic diseases.

The following sections discuss secondary HLP in various diseases :

VII.2. : *HLP in endocrinopathies,*

VII.3. : *HLP in renal diseases,*

VII.4. : *HLP in hepato-biliary diseases,*

VII.5. : *HLP in immunologic conditions,*

VII.6. : *HLP in gout and hyperuricemia,*

VII.7. : *other forms of secondary HLP encountered in glycogenesis, infections, malignant diseases, neuropsychical diseases, muscular and articular affections etc.*

CHAPTER VIII. THE EPIDEMIOLOGY OF HLP

The introduction gives a brief outline of the history of HLP epidemiology within the framework of the epidemiology of cardiovascular diseases of atherosclerotic etiology. The objectives, principles and various methods of epidemiologic research in clinical lipidology are shown ; this involves three stages : preparation of the epidemiologic action, investigation and evaluation of the data obtained. Details are given concerning the methodology applied by the research group of the Clinic of Nutrition and Metabolic Diseases, Bucharest, in a vast epidemiologic campaign during the years 1970 and 1971, including 7085 non-selected subjects (85%) of the population in a district of Bucharest. The study had in view the behaviour of serum lipids and lipoproteins correlated with certain factors of etiopathogenic importance.

The brief discussion of the notions of „normal" and „pathologic" in clinical lipidology, which follows, is based on the concept that the normal value of serum lipids and lipoproteins must be studied both from the clinical-individual and the statistical-collective points of view. There is a close connection, but also marked differences between these two aspects. The statistical data may be considered to have a general orientative value in particular clinical cases.

Section VIII.4 analyses the epidemiologic data concerning serum lipids and lipoproteins in normal subjects. The role of age, sex, food, physical activity, occupation, degree of culture and education, smoking, geographical and ethnical factors, seasonal variations, are discussed separately with regard to cholesterolemia, triglyceridemia and lipoproteinemia. However, this section chiefly deals with processing of the data obtained in the authors' investigation.

The epidemiology of hyperlipidemia — hyperlipoproteinemia states forms the subjects of the next subchapter, analysing the results obtained in this connection. The prevalence of HLP in the general population investigated was assessed at 14.29% (table VIII.7). The prevalence of HLP types and various

Scanned with OKEN Scanner

etiologic forms is given in tables VIII.9—12. The role of epidemiologic factors in HLP is then discussed : age and sex (tables VIII.9, VIII.13, 8, 14), body weight (table VIII.15), food (table VIII.16), physical activity regimen (table VIII.17), occupation.

A special part concerns HL-HLP as vascular risk factors, viewed from the angle of epidemiologic data and dealing separately with coronary atherosclerosis (painless ischemic heart disease, angina pectoris, myocardial infarct, the relatives of patients with myocardial infarct), cerebral atherosclerosis, obstructive peripheral atherosclerosis, major diabetic vascular diseases. With reference to their own data and the speciality literature the authors discuss the discriminatory (transverse studies) and predictive character (longitudinal studies) of hypercholesterolemia, hypertriglyceridemia and hyperlipoproteinemia, in the presence or onset of various clinical forms of atherosclerosis.

Finally, the problem of the natural history of HL-HLP states, which must be constantly correlated with the natural history of atherosclerosis, is approached (fig. VIII.7).

CHAPTER IX. **THE PREVENTION OF HL-HLP STATES**

IX.1. *General aspects*

The most efficient way of reducing morbidity and mortality from cardiovascular diseases is their management in the preventive phase. The relationship between HL—HLP states and atherosclerosis being demonstrated along multiple lines, it is natural and imperative to organize the intensive and extensive prophylaxis of HL-HLP. This stands at the basis of the preventive programme. It is then implemented in corroboration with medical, economic, political and organisational factors.

IX.2. *Primary prevention* includes

— Active detection of HLP risk factors : familial foci. primary and secondary etiologic factors ;
— improvement and suppression of HLP risk factors.

IX.3. *Secondary prevention* forms part of the primary prophylaxis of atherosclerosis and includes :

— active detection of HL-HLP states, its methodology and objectives ;
— early treatment of HL-HLP states.

IX.4. *Tertiary prevention* superposed to a great extent on the secondary prevention of atherosclerosis.

CHAPTER X. **THE TREATMENT OF HL-HLP STATES**

X.1. *General aspects*

The purpose of the treatment is to lower serum lipid and lipoprotein concentrations to normal values for the respective age-group, or as close as possible, to normal and to maintain these levels under conditions of a virtually unmodified daily activity.

The therapy includes : diet, physical education, hypolipoproteinemia medication and surgery.

The basic principal is to begin by diet and physical education. If after three months the serum lipid and lipoprotein spectrum is not modified, a hypolipoproteinemia medication is added without abandoning the first two methods. Surgery is seldom resorted too.

Scanned with OKEN Scanner

X.2. *Dietetic treatment*

After discussing general notions of dietetics, the diet in the different types of HLP is approached, commenting upon certain aspects linked to dieting, to the education and control of the patients. The efficiency of dieting in the management of HLP is confirmed by the fact that 60% of the HLP patients under the authors' care, in out-patient units, have maintained their metabolic balance in this way.

X.3 to X.8. *Hypolipoproteinemia-inducing medication and physical education*

The foremost hypolipoproteinemia drugs are discussed : Cholestyramine, Clofibrate, Dextrothyroxin, Nicotinic acid derivatives, as well as the effects of physical education.

X.9. Concerns the *surgical treatment* (ileal by-pass).

X.10. Selection of the methodology in the management of HL-HLP states.

— HLP type I : diet + physical education (?)
— HLP type IIa : diet (?) + physical education (?) + cholestyramine + surgery.
— HLP type IIb : diet + physical education + medication (Cholestyramine, Clofibrate, nicotinic acid, either separate or combined).
— HLP type III : diet + physical culture + Clofibrate.
— HLP type IV : diet + physical culture + nicotinic acid + Clofibrate.
— HLP type V : diet + physical education (?) + anabolizing drugs (?)

Therapeutical methods in particular circumstances are also discussed : diabetes mellitus, pancreatitis, pregnancy, autoimmune diseases.

In conclusion, due to the filiation of HLP and atherosclerosis, the treatment of HL-HLP states is of constant and stringent importance ; to be applied in the best conditions the following should be established :

— the diagnosis of the HLP type ;
— the etiopathogenic circumstances ;
— the conditions of a close cooperation between doctor and patient, in the course of a long term out-patient care.

The patient is at first checked every three weeks, then gradually every three months in terms of the therapeutical results and the patient's compliance with the prescriptions. In some instances it may be necessary to change the therapeutical attitude in order to assess the effectiveness of the treatment, or to detect eventual relapses.

The management of HL—HLP states demands on the part of the physician much tact and convincing ability, and on the part of the patient thoroughness, patience and especially faith in the result of his endeavour ; which often involves giving up many things.

CHAPTER XI. HYPOLIPIDEMIA AND HYPOLIPOPROTEINEMIA STATES

The incidence of these states is low and their clinical and clinical epidemiological importance reduced. They are briefly discussed in this chapter.

Scanned with OKEN Scanner

INDEX TEMATIC SELECTIV

Acizi grași — generalități 97
— cinetică 99
— secvența „input" — biosinteză 112
— secvența „output" — oxidare 122
— integrare metabolică — în ficat 136
— în țesut adipos 143
— în țesut muscular 153
— determinarea în ser (AGL) 328

Acizi biliari — generalități 82
— cinetică 84
— biosinteză 85
— circuitul enterohepatic 87

Acidul nicotinic
— ACTH-ul și metabolismul lipidic 590

Apoproteinele — generalități 252
— ... din chilomicroni 172
— ... din VLDL 170, 191
— ... din LDL 193
— ... din HDL 203

Biguanidele 208

Colesterol — generalități 594
— dinamica colesterolului uman 59
— secvența „input" — absorbția 60
— sinteza 65, 67
— secvența „output" — eliminare 69, 72
— reglarea generală a metabolismului 81
— determinare în sînge 73

Corpii cetonici — cetogeneza 301
— oxidare 129

Chilomicronii — generalități 130
— compoziție chimică 174
— secvența „input" din metabolism 174
— secvența „output" din metabolism 170
183

Scanned with OKEN Scanner

Catecolaminele şi metabolismul lipidic 246
Comportamentul alimentar 566
Colestiramina 584
Clofibratul 585
Cultura fizică 595
Dietă — tratament dietetic al HL—HLP 566
Dextrotiroxina 588
Explorarea lipidelor şi lipoproteinelor serice 289
— recoltarea sîngelui 291
— păstrarea sîngelui 291
— extracţia lipidelor 298
— determinarea colesterolemiei 301
— determinarea trigliceridelor serice 314
— determinarea fosfolipidelor serice 325
— determinarea AGL seric 326
— determinarea lipidelor totale serice 325
— testul chilomicronilor — observarea plasmei 379
— electroforeza lipoproteinelor — lipidograma 336
— ultracentrifugarea lipoproteinelor serice 358
— alte metode de explorare a lipoproteinelor 373
— determinarea activităţii LCAT 377
— testul intravenos al toleranţei la grăsimi 380
— determinarea activităţii LPL 383
Epidemiologia HL—HLP 320
— istoric 520
— metodologie 522
— normal şi patologic în lipidologia chimică 523
— lipidele şi lipoproteinele serice la subiecţii normali 528
— epidemiologia HL—HLP 533
— HL—HLP — ca factori de risc vascular 541
— istoria naturală a HL—HLP 553
Fosfolipidele — generalităţi 155
— cinetică 158
— secvenţa „input" din metabolism 159
— secvenţa „output" din metabolism 164
— determinarea în sînge 325
Glucagonul şi metabolismul lipidic 232
Glucocorticoizii şi metabolismul lipidic 249
HDL — generalităţi 206
— compoziţie chimică 206
— compoziţie proteică — apoproteinele 208
— compoziţie — metabolism 209
Hormonii sexuali şi metabolismul lipidic 258
HL—HLP — clasificare 387
— diagnostic 394
— mecanisme patogenetice generale 413
HLP familiale — tip I 417
— tip II 424

Scanned with OKEN Scanner

— tip III 437
— tip IV 443
— tip V 448
HLP primare și pancreatitele 452
HLP primare alcoolice 454
HLP primare de stress 459
HLP din diabetul zaharat — obezitate și patoalimentația excedentară 461
HLP iatrogene 504
HLP secundare 508
Hipolipidemii — hipolipoproteinemii 602
Integrarea metabolismului lipidic și lipoproteinic 219
— generalități — cinetică generală 220
— mecanisme hormonale 226
— rolul alimentației 262, 266
— rolul sistemului nervos 279
— metabolismul lipidic — lipoproteinic și vîrsta 282
— homeostazia energetică și lipidele 284
Insulina — mecanisme generale de acțiune 229
— acțiunea în ficat 231
— acțiunea în țesutul adipos uman 236
— acțiunea în țesutul muscular 239
Lipide — definiție 35
— clasificare 35
— ... alimentare 40
— ... și alimentația parenterală 51
— ... digestie și absorbție 54
— ... și energogeneza 284
— ... determinare în ser 328
Lipogeneză — vezi — trigliceride — secvența „input" 133
Lipoliza — trigliceridelor din țesutul adipos 277, 480, 490
— ... plasmatică postheparinică 224
— ... și sistemul nervos 281
Lipoproteinele — definiție, istoric 165
— caractere fizico-chimice 167
— structura 169
— apoproteinele 172
— cinetică generală 220
— lipoproteine cu densitate foarte joasă — vezi VLDL 191
— „ „ „ joasă — vezi LDL 202
— „ „ „ crescută — vezi HDL 206
LDL — generalități 202
— compoziție chimică 202
— apoproteinele 203
— metabolism 205
Lipoproteinlipaza — mecanisme de acțiune 188, 189
— determinarea activității în sînge 383
LCAT — caracteristici și mecanisme de acțiune 210
— determinarea activității în sînge 377

Lipoproteinele şi metabolismul lipidic 165
Obezitatea — HL—HLP în ... 461, 474, 499
Prostaglandinele şi metabolismul lipidic 260
Profilaxia HL—HLP — generalităţi, metodologie 556
— profilaxia primară 559
— profilaxia secundară 562
— profilaxia terţiară 564
Reziduul ultracentrifugal 216
Somatotropul şi metabolismul lipidic 253
Trigliceridele — generalităţi 131
— cinetică 223
— secvenţa „input" din metabolism — biosinteza 133
— secvenţa „output" din metabolism — lipoliza 134
— integrarea metabolismului TG — în ficat 136
— în ţesutul adipos 143
— în ţesutul muscular 153
— determinarea în sînge 314
— trigliceride cu lanţ mijlociu (MCT) 581
Ţesutul adipos — structură 489
— patologie biochimică 474
— privire integrativă 499
— metabolism 508, 509
Tratamentul HL—HLP — generalităţi, obiectiv, metodologie 565
— tratament dietetic 566
— colestiramina 584
— clofibratul 585
— dextrotiroxina 588
— acidul nicotinic 590
— alte medicamente 592
— cultura fizică 595
— tratamentul chirurgical 597
— selectarea metodologiei în funcţie de tipul HLP şi formele clinice 598
VLDL — generalităţi 191
— compoziţie chimică 192
— apoproteinele 193
— secvenţa „input" din metabolism 194
— secvenţa „output" din metabolism 199

Scanned with OKEN Scanner

ERATĂ

Pagina	Rîndul	În loc de:	Se va citi:
37	între 10 și 11 de jos	Lipsă figura I.1 (vezi mai jos)	
129	13 de jos	betahidroxi-betametil-CoA	betahidroxi-betametil-glutaril-CoA
486	în fig. VI.27	Glucozo-6-	Glucozo-6-fosfat
492	în fig. VI.30 a și b	Hip	Hipoinsulinism

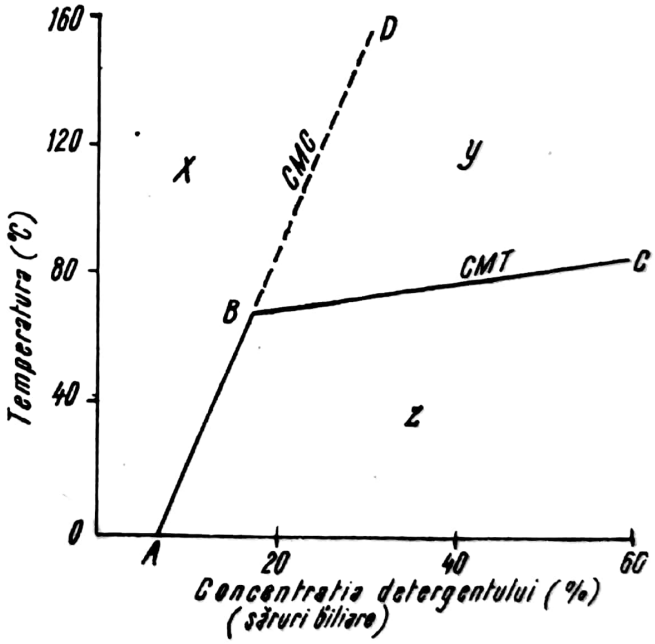


Fig. I. 1. — Comportarea lipidelor solubile (tip III) în funcție de temperatură și concentrație (explicații în text) (simplificat după Carrey și Small — 6,7).

Redactor: VIOLANDA LEORDEANU

Bun de tipar: 22-X-1976. Formatul: 16/70 × 100. Hîrtie: Scris I A 70 × 100/56 84% gr. alb. Coli de tipar: 42,5. Tirajul: 3700 ex. + 80 ex. S.P. + 40 ex. expoziție.

C. 290. I. P. INFORMAȚIA
str. Brezoianu nr. 23-25
București